

**Der Einfluß der Gaszusammensetzung der Luftkammer  
auf das Schlupfgeschehen und den Leberstoffwechsel  
des Kükenembryos**

**Jakobus-Stephanus Weißenbeck**  

---

**1981**  

---





Digitized by the Internet Archive  
in 2026

[https://archive.org/details/IA41548325\\_0025](https://archive.org/details/IA41548325_0025)



Aus dem Institut für Physiologie, Physiologische  
Chemie und Ernährungsphysiologie der Tierärztlichen  
Fakultät der Universität München

Geschäftsführender Vorstand: Prof. Dr. H. Zucker

Angefertigt unter Leitung von Prof. Dr. D. Giesecke

Der Einfluß der Gaszusammensetzung der Luftkammer  
auf das Schlupfgeschehen und den Leberstoffwechsel  
des Kükenembryos

Inaugural - Dissertation

zur Erlangung der tiermedizinischen  
Doktorwürde der Tierärztlichen Fakultät  
der Ludwig-Maximilians-Universität München

von

Jakobus-Stephanus Weißenbeck

aus

Oberroth/Dachau

München 1981

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät  
der Universität München

Dekan: Prof. Dr. J. von Sandersleben  
Referent: Prof. Dr. D. Giesecke  
Korreferent: Prof. Dr. H. K. Dennig

Tag der Promotion: 27. Februar 1981



DISSERTATIONS - UND FOTODRUCK FRANK GmbH  
8000 München 2, Gabelsbergerstraße 15, Tel. 2809090

## Inhaltsverzeichnis

|                                                                                                                                                | Seite |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------|
| 1. Einleitung                                                                                                                                  | 1     |
| 1.1. Der Gasaustausch beim embryonalen Vogel                                                                                                   | 1     |
| 1.2. Physiologische und physiologisch-chemische<br>Veränderungen beim Schlupfgeschehen                                                         | 4     |
| 1.3. Zielsetzung                                                                                                                               | 6     |
| 2. Eigene Untersuchungen                                                                                                                       | 7     |
| 2.1. Methoden                                                                                                                                  | 7     |
| 2.1.1. Versuchstiere                                                                                                                           | 7     |
| 2.1.2. Reagentien                                                                                                                              | 7     |
| 2.1.3. Bestimmung der Lebermetabolite                                                                                                          | 7     |
| 2.1.4. Bestimmung der Desoxyribonucleinsäure                                                                                                   | 9     |
| 2.1.5. Bestimmung des Fettgehaltes in der Leber                                                                                                | 10    |
| 2.1.6. Bestimmung des Leberpigmentes                                                                                                           | 10    |
| 2.1.7. Bestimmung des Gehaltes des veresterten<br>Cholesterines in der Leber                                                                   | 11    |
| 2.1.8. Bestimmung des Calciumgehaltes in der Leber                                                                                             | 11    |
| 2.1.9. Bestimmung der Motilität des Kükenembryos                                                                                               | 12    |
| 2.1.10. Technik des Abdichtens und der Begasung der<br>Luftkammer                                                                              | 12    |
| 2.1.11. Statistische Berechnung                                                                                                                | 13    |
| 2.2. Ergebnisse                                                                                                                                | 13    |
| 2.2.1. Der Einfluß der Gaszusammensetzung der<br>Luftkammer auf das Schlupfgeschehen des<br>Hühnerküken                                        | 13    |
| 2.2.2. Der Einfluß der Gaszusammensetzung der Luft-<br>kammer auf die Adeninnucleotidkonzentration<br>der embryonalen Kükenleber               | 17    |
| 2.2.3. Der Einfluß der Gaszusammensetzung der Luft-<br>kammer auf den Glykogenstoffwechsel in der<br>embryonalen Kükenleber                    | 17    |
| 2.2.4. Der Einfluß der Gaszusammensetzung der Luft-<br>kammer auf den Fett-, Cholesterin- und Pig-<br>mentgehalt in der embryonalen Kükenleber | 28    |

|                                                                                                             | Seite |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------|
| 2.2.5. Der Einfluß von Calciumionen auf das Schlupfgeschehen und auf Lebermetabolite des embryonalen Kükens | 32    |
| 2.2.6. Der Einfluß der Begasung der Luftkammer auf die Motilität des Kükensembryos                          | 42    |
| 3. Diskussion                                                                                               | 44    |
| 4. Zusammenfassung                                                                                          | 51    |
| 5. Literaturverzeichnis                                                                                     | 55    |

## 1. Einleitung

### 1.1. Der Gasaustausch beim embryonalen Vogel

Der Vogelembryo entwickelt sich innerhalb einer harten Schale, welche außen von einem organischen Überzug, der Cuticula, umgeben ist. Die Eischale besteht überwiegend aus Calciumcarbonat, das in Form der Calcitstruktur kristallisiert. Durch unvollständige Anordnung der Calcitkristalle entstehen Hohlräume, die sogenannten Poren (66,67). Ihre Länge differiert zwischen 2 mm beim Straussenei und 0,4 mm beim Kolibriei; die Porenfläche nimmt mit der Eigröße zu. Das Muster der Poren erreicht mit zunehmender Eigröße bei den einzelnen Vogelspezies eine immer größer werdende Variation. Während die Poren z. B. beim Rotkehlchenei gerade und ohne Ausbuchtungen sind, weisen die des Hühner-eies eine Schlängelung mit vereinzelt Ausbuchtungen und trichterförmig zur Eioberfläche gerichteten Ende auf. Die Poren des Strausseneies sind geschlängelt und haben zahlreiche Ausbuchtungen und Verzweigungen (39, 53,72).

Über die Poren vollzieht sich der Gasaustausch des embryonalen Vogels. Nach PAGANELLI et al. (49) liegt diesem Gasaustausch ein Diffusionsprozess nach dem Fick'schen Gesetz zugrunde. Danach ist die Menge des ausgetauschten Gases in der Zeiteinheit der Porenfläche und der Druckdifferenz der diffundierenden Gase direkt, der Porenlänge aber umgekehrt proportional (49,72). Daraus ergibt sich, daß die Strukturelemente der Schale ihren Gasaustausch mitbestimmen.

Beim Hühnerei passieren gegen Ende der Inkubation ungefähr 0,25 l Sauerstoff pro Std. die Eischale. Die

Menge des ausgetauschten Kohlendioxids und Wasserdampfes bewegt sich in der gleichen Größenordnung (1,71). Die aus- bzw. eintretenden Gase haben dabei folgende Barrieren zu passieren: Eischale, äußere und innere Schalenmembran mit einer Dicke von je 15  $\mu\text{m}$  und den Kapillarwall mit einer Dicke von 0,2  $\mu\text{m}$  (15,65). Der durch die Poren eintretende Sauerstoff wird von den Chorioallantoisgefäßen aufgenommen. Auf dem umgekehrten Wege wird Kohlendioxid abgegeben. Somit kommt der Chorioallantois eine entscheidende Bedeutung für die Atmung des embryonalen Kükens zu.

Die "Chorioallantoisatmung" stellt von Anfang der Inkubation bis kurz vor dem Schlupf die einzige Möglichkeit dar, Sauerstoff und Kohlendioxid mit der Umgebung auszutauschen (66,67).

Gegen Ende der Inkubation geht die Chorioallantoisatmung in die Lungenatmung über. Voraussetzung für die intraovale Atmung über die Lunge ist die Ausbildung der Luftkammer. Sie entsteht dadurch, daß sich innere und äußere Eimembran voneinander trennen und auf diese Weise einen Hohlraum bilden (26). Das Volumen der Luftkammer wächst als Folge des fortschreitenden Wasserverlustes in Form von Wasserdampf (48,51). Am 14. Tag der Bebrütung beträgt es 6-7  $\text{cm}^3$  und steigt in der letzten Inkubationswoche auf 9-11  $\text{cm}^3$  an (52).

Die aktive Atmung beginnt um die Zeit des Durchstoßens der inneren Schalenmembran mit Hilfe des Schnabels (37,38). Aus den Arbeiten von ROMIJN und ROOS (56), sowie WINDLE und BARCROFT (74) geht hervor, daß dies ungefähr 24 Stunden vor dem Schlüpfen erfolgt. ROMIJN (55) bezeichnet dies als parafoetale Zeit.

Die Gaszusammensetzung in der Luftkammer erfährt während der Inkubation charakteristische Veränderungen. In der ersten Lebenswoche entspricht diese der äußeren Atmosphäre. Vom 8. Tag der Entwicklung bis zum 20. Tag fällt der Sauerstoffgehalt der Luftkammer von 20 Vol% auf 12 Vol%, der Kohlendioxidgehalt steigt von 1,5 Vol% auf 11 Vol% (56). Offensichtlich wird der Gasaustausch über die Diffusion mit zunehmendem Alter des Embryos nicht mehr aufrecht erhalten (71,72).

Diese Veränderungen der Gaszusammensetzung in der Luftkammer scheinen auch Auswirkungen auf die Blutgase zu haben. Untersuchungen über die Gasdruckverhältnisse des Blutes stellten FREEMAN und MISSION (15) und TAZAWA (65) an. Sie beobachteten eine Abnahme des Sauerstoffdruckes des venösen Blutes der Allantois von 100 mm Hg (8. Tag der Bebrütung) auf 50 mm Hg (20. Tag), während gleichzeitig der Kohlendioxiddruck von 15 mm Hg (8. Tag) auf 40 mm Hg (20. Tag) stieg. Außerdem beobachtete HALL (22), daß die Hämoglobinsauerstoffaffinität mit ansteigendem Alter des Kükenembryos fällt.

Nach allgemeiner Ansicht nehmen die Veränderungen der Gaszusammensetzung der Luftkammer Einfluß auf das Schlupfgeschehen (15,55,56,65,70).

VISSCHEDIJK (70) erreichte eine signifikante Verzögerung beim Anpicken der Eischale, wenn er ein Loch in die Luftkammer bohrte und auf diese Weise den Gasaustausch begünstigte. Umgekehrt konnte er ein vorzeitiges Anpicken auslösen, wenn er die Luftkammer über der Eischale mit Paraffin abdichtete. Dabei zeigte es sich, daß der stimulierende Effekt von Kohlendioxid ausgeprägter war, als der hemmende Effekt, der durch die Eröffnung der Luftkammer zustande kam. Eier, die im

Bereich der Luftkammer mit Paraffin abgedichtet wurden, wurden ungefähr 12 Stunden vor den Kontrolleiern angepickt; wurde die Luftkammer eröffnet, pickten die Küken im Vergleich zu Kontrolltieren etwa 6 Stunden später an (68,79). Auch andere Autoren weisen auf eine Schlupfbeschleunigung durch eine Veränderung der Gaszusammensetzung in der Luftkammer hin (74).

## 1.2. Physiologische und physiologisch-chemische Veränderungen beim Schlupfgeschehen

Um die Zeit des Schlupfes treten ganz charakteristische Veränderungen physiologischer und physiologisch-chemischer Art auf.

Als erstes Anzeichen für die Einleitung des Schlupfes ist die Einziehung des Dottersackes mit Hilfe der Abdominalmuskulatur zu sehen. Der Dottersackinhalt dient dem Vogel nach dem Schlupf als Nahrungsreserve (2,3). Bereits vor dem Einziehen des Dottersackes in die embryonale Leibeshöhle findet ein deutlicher Fetteinbau in die Leber statt (45). Diese Veränderung des Lipidgehaltes wird maßgeblich von einer Zunahme des Cholesteringehaltes bestimmt (53). Gleichzeitig damit erfolgt eine Anreicherung der Carotinoide in der embryonalen Kükenleber. Diese stellen vornehmlich Xanthophylle und Zeaxanthin dar (45,53).

Weiter können mit dem Anbahnen des Schlupfzeitpunktes Veränderungen im Glykogengehalt (28,35) und der Adenosintriphosphatkonzentration (73) in der embryonalen Kükenleber beobachtet werden. Während bis zum 19. Tag der Bebrütung eine Glykogeneinlagerung in die Leber

erfolgt, findet ab dem 20. Tag der umgekehrte Prozess, nämlich der Abbau des gespeicherten Glykogens statt. In der Literatur wird die Meinung vertreten, daß die Glykogenolyse eine Voraussetzung für den erfolgreichen Schlupf darstellt. Die dabei freigesetzte Glucose soll der Funktion des Zentralnervensystems dienen (16,17).

Mit dem Glykogenabbau, also um den 20. Tag der Bebrütung, ist ein signifikanter Abfall der ATP-Konzentration zu beobachten. WEISS (73) zeigte, daß die Glykogenolyse und der ATP-Abfall mit dem Schlupfgeschehen einhergehen. Nach Applikation von L-Thyroxin am 17. Tag der Bebrütung war hier sowohl auf das Schlupfgeschehen wie auch auf den Glykogen- und ATP-Abfall ein beschleunigter Effekt zu beobachten. Umgekehrt führte die Applikation von Thioharnstoff zu einer Verzögerung des Schlupfes und des Glykogen- bzw. ATP-Abfalles.

Um einen erfolgreichen Schlupf durchzuführen, muß der Embryo eine bestimmte Position im Ei einnehmen (36,50). Diese Position ist im Normalfall erreicht, wenn das Küken mit dem Schnabel die Eischale erreicht (21,47). Um diese Zeit ist eine Abnahme der Motilität zu beobachten. Auf diese Ruhephase folgt eine Phase erhöhter Aktivität, in der der Embryo die Eischale anpickt (36).

Untersuchungen über die Einzelbewegungen stellten HAMBURGER und OPPENHEIM (11,21,47) anhand von Eiern, bei denen die Eischale teilweise entfernt wurde, dar. Ab dem 17. Tag der Bebrütung setzen Kopf- und Körperbewegungen als koordinierte Aktionen ein. Die einzelnen Bewegungsphasen werden von koordinierenden und integrierenden Mechanismen des Zentralnervensystems gesteuert.

### 1.3. Zielsetzung

Aus dem Vorangegangenen geht hervor, daß durch die Gaszusammensetzung in der Luftkammer des embryonalen Küchens ein Einfluß auf das Schlupfgeschehen ausgeübt wird.

Weiter kann gezeigt werden, daß das Schlupfgeschehen mit Veränderungen der Glykogen-, der ATP- und der Lipidkonzentration in der Leber, sowie des Motilitätsverhaltens des Embryos verbunden ist. Es stellt sich nun die Frage, ob Eingriffe in die Gaszusammensetzung der Luftkammer neben Auswirkungen auf den Schlupfzeitpunkt eine Bedeutung für physiologisch und physiologisch-chemische Veränderungen während des letzten Brutungsstadiums haben. Diese Frage sollte im Rahmen dieser Arbeit untersucht werden.

## 2. Eigene Untersuchungen

### 2.1. Methoden

#### 2.1.1. Versuchstiere

Die Untersuchungen wurden an embryonalen Küken der Rassen Weißes Leghorn und Braunes Leghorn durchgeführt. Die Eier der Weißen Leghornrasse wurden vom Versuchsgut Heinrichsruh (LSL) bezogen, die der Braunen Leghornrasse vom Geflügelhof Lohfeld bei Dachau. Die Eier der Braunen Leghornrasse wurden eingesetzt, weil sich ihre Schale durch eine besonders große Stabilität auszeichnete. Dies war wichtig für die Untersuchungen, bei denen die Luftkammer begast wurde. Die Bebrütung erfolgte im Institut bei einer Temperatur von 37°-38° C und einer relativen Luftfeuchtigkeit von 63-67 %.

#### 2.1.2. Reagentien

Die Enzyme und Coenzyme wurden von der Firma Boehringer, Mannheim, der cAMP-Test von dem Radiochemical Centre in Amersham, Buckinghamshire (England) bezogen. Der Cholesterintest wurde von der Firma Merck AG - Darmstadt geliefert. Als Holzleim wurde "Ponal" von der Firma Henckel verwendet. Carbogen, reiner Sauerstoff, Stickstoff und reines Kohlendioxid wurden von der Firma Linde bezogen. Alle übrigen Chemikalien lieferte die Firma Merck AG - Darmstadt.

#### 2.1.3. Bestimmung der Lebermetabolite

Um den in vivo Status der Metabolitenkonzentration zu erfassen, wurden die Lebern der embryonalen Küken möglichst schnell entnommen und nach Abtrennung der Gallen-

blase sofort in flüssigem Stickstoff tiefgefroren. Je nach Alter der Embryonen wurden pro Analyse 3-5 Bruteier verwendet. Anschließend wurde das Lebergewebe im vorgekühlten Mörser fein pulverisiert.

1 Gramm der pulverisierten Leber wurde in 4 ml 6 %iger  $\text{HClO}_4$  aufgenommen und anschließend mit dem Ultraturrax (TP 18/2 Janke & Kunkel, Staufen i. B.) 30 s homogenisiert. Das Homogenat wurde bei 10.000 xg und 4° C 15 min zentrifugiert. Der Überstand wurde bei 4° C aufbewahrt und der Rückstand in 2 ml 6 %iger  $\text{HClO}_4$  suspendiert und nochmals 15 min zentrifugiert. Beide Überstände wurden nun für die Bestimmung von ATP, ADP, AMP, Glykogen, Pyruvat und Lactat mit  $\text{K}_2\text{CO}_3$  auf pH 7,0 eingestellt. Die Bestimmung von ATP wurde nach LAMPRECHT & TRAUTSCHOLD (40), die von ADP und AMP nach JAWOREK et al (32), die von Glykogen nach KEPPLER & DECKER (34), die von Pyruvat nach CZOCK & LAMPRECHT (7) und die von Lactat nach HOHORST (29), durchgeführt.

Die cAMP-Konzentration wurde nach dem Isotopenverdünnungstest von GILMAN bestimmt (19). Das Prinzip dieses Testes basiert auf der kompetitiven Bindung von unmarkiertem cAMP und einer definierten Menge tritiummarkiertem cAMP an ein spezifisches Bindungsprotein mit hoher Affinität für cAMP. Der Anteil des proteingebundenen radioaktiven cAMP ist der Konzentration an nicht markiertem cAMP umgekehrt proportional. In der Versuchsdurchführung wurden ca. 10 mg schnell entnommenen Lebergewebes in 2 ml 10 %iger Trichloressigsäure homogenisiert. Das Homogenat wurde anschließend 30 min bei 15.000 xg zentrifugiert. 1 ml des Überstandes wurde mit 50  $\mu\text{l}$  HCl-Lösung (1 mol/l) versetzt und das Gemisch mit wassergesättigtem Äther auf pH 7,0 ausgeäthert. Der pH wurde mit NaOH (1 mol/l) eingestellt. Zu den anschlie-

Beim lyophilisierten Proben wurden 200  $\mu$ l Tris-EDTA-Puffer (0,05 mol/l) gegeben. Der weitere Arbeitsgang erfolgte im Eisbad. 50  $\mu$ l der jeweiligen Proben wurden mit 50  $\mu$ l tritiummarkiertem cAMP und 100  $\mu$ l Bindungsprotein vermischt. Nach dem Durchmischen der Proben auf dem Schüttelmixer wurden diese im Kühlschrank für 2 h aufbewahrt. Das nicht gebundene cAMP wurde durch Adsorption an 100  $\mu$ l Aktivkohle von dem protein-gebundenen Anteil getrennt. Nach der Zentrifugation wurden für die Radioaktivitätszählung im Liquid-Scintillations-Zähler 200  $\mu$ l des Überstandes entnommen und mit 300  $\mu$ l H<sub>2</sub>O und 10 ml Unisolve (Koch-Light Laboratories Ltd.; Colnbrook Bucks, England) im Scintillationsfläschchen vermischt. Der cAMP-Gehalt der unbekannten Probe konnte mit Hilfe des Blank- und Nullwertes durch Interpolation aus der gleichzeitig mitgeführten Standardkurve ermittelt werden.

#### 2.1.4. Bestimmung der Desoxyribonucleinsäure

Als Bezugsgröße für die cAMP-Konzentration diente der DNS-Gehalt des Niederschlages, der nach Fällung mit Trichloressigsäure erhalten wurde (siehe 2.1.3.). Die DNS-Bestimmung beruht auf der spezifischen Farbreaktion der Desoxyribose mit Diphenylamin (5). Der Niederschlag wurde 1 mal mit 5 %iger Trichloressigsäure gewaschen, zentrifugiert und der Überstand abgesaugt. Danach wurden die Proben mit 1 ml KOH (0,3 mol/l) 5 min aufgekocht, im Eisbad 10 min abgekühlt und mit 60  $\mu$ l eiskalter konzentrierter Perchlorsäure versetzt. Nach 1 h Inkubation im Eisbad wurden die Proben zentrifugiert und der Niederschlag 3 mal mit Perchlorsäure (0,4 mol/l) gewaschen. Der so entstandene Niederschlag wurde mit 500  $\mu$ l Perchlorsäure (0,5 mol/l) 5 min aufgekocht, abgekühlt und zentrifugiert. 300  $\mu$ l vom Überstand wurden

nun mit 600  $\mu$ l Diphenylaminlösung in ein Eppendorfgefäß pipettiert und 18 h bei 37° C inkubiert. Danach wurde die Extinktion des Gemisches bei 578 nm gegen den Nullwert einer Perchlorsäurelösung (0,5 mol/l) im Photometer gemessen. Der DNS-Gehalt der Probe wurde mit Hilfe einer Eichkurve ermittelt.

#### 2.1.5. Bestimmung des Fettgehaltes in der Leber

Der Fettgehalt der Leber wurde nach der Methode von FOLCH (18) bestimmt.

500 mg lyophilisierte Leber wurden eingewogen und in einem Glaskolben mit einem Methanol-Chloroformgemisch (1:2) so lange extrahiert, bis alle lipidhaltigen Substanzen abgetrennt waren. Anschließend wurde der Extrakt mit dem Extraktionsmittel auf 50 ml im Meßkolben aufgefüllt. Nach gründlichem Durchmischen wurden 30 ml davon in austarierte Gefäße gegeben. Nach Verdampfung des Lösungsmittels konnte der Fettgehalt gravimetrisch bestimmt werden. Die restlichen 20 ml wurden für die Bestimmung des Leberpigmentes und des Cholesteringehaltes eingesetzt.

#### 2.1.6. Bestimmung des Leberpigmentes

Die Bestimmung des Leberpigmentes erfolgte durch die Messung der Extinktion des bei der Fettbestimmung gewonnenen Extraktes. Die Farbintensität wurde bei 460 nm gemessen. Bei dieser Wellenlänge werden hauptsächlich die Carotinoide erfaßt.

#### 2.1.7. Bestimmung des Gehaltes des veresterten Cholesterines in der Leber

Die Bestimmung des veresterten Cholesteringehaltes nach LIEBERMANN-BURCHARD (41) beruht darauf, daß Cholesterin bei Raumtemperatur mit Essigsäureanhydrid und konzentrierter Schwefelsäure eine Verbindung von intensiv blaugrüner Färbung bildet. 50 µl der bei der Fettbestimmung gewonnenen Probe wurden mit 2 ml Cholesterinreagenz versetzt. Nach 10 min wurden 0,5 ml konzentrierte Schwefelsäure hinzugegeben. Gleichzeitig wurden 2 Standards mit Cholesterinstandardlösung und 2 Blindproben hergestellt. Nach dem Mischen der Proben wurden diese für 10 min in ein Wasserbad von 25° C gegeben. Anschließend wurde die Extinktion bei 578 nm gemessen.

#### 2.1.8. Bestimmung des Calciumgehaltes in der Leber

Für diese Bestimmung (25) wurden zunächst 500 mg tiefgefrorene Leber in einem hitzestabilen Tiegel eingewogen und bei 560° C verascht. Der dabei gebildete Rückstand stellt den Gehalt an anorganischen Substanzen dar. Für die Calciumbestimmung wurde der Inhalt des Tiegels in rauchender Salzsäure aufgelöst und auf einem Sandbad eingedampft. Der Rückstand wurde in 3 ml verdünnter Salzsäure aufgenommen und in ein Becherglas übergeführt. Anschließend wurde der Tiegel mit heißem Wasser nachgespült und das Waschwasser mit der HCl-Lösung vereinigt. Nach dem Abfiltrieren wurde nun das Filtrat mit einer Lanthanlösung auf 10 ml aufgefüllt. Die so erhaltene Lösung wurde für die Messung eingesetzt. Die Messung erfolgte im Atomabsorptionsspektrometer. Nach Einstellen des Lampenstroms auf 15 mA und 15 min Vorheizen des Gerätes wurde Acetylen eingeleitet und gezündet. Der Calcium-

gehalt wurde bei einer maximalen Wellenlänge von 423 nm ermittelt. Die Berechnung erfolgte mit Hilfe einer Eichlösung.

#### 2.1.9. Bestimmung der Motilität des Kükenembryos

Die Messung der Motilität erfolgte nach dem von PETRY und WITTMANN (50) entwickelten Verfahren. Hierfür wurde etwa in der Mitte der Längsachse des Eies ein Magnet angebracht und dieses anschließend in eine Spule verbracht. Dabei wurde das Ei auf zwei Bügel so gelagert, daß eine freie Beweglichkeit gewährleistet war. Bewegungen des Embryos führten zu einer gleichzeitigen Bewegung des Eies und erzeugten so über den Magneten eine Spannung in der umgebenden Spule, die über einen Schreiber registriert wurde.

#### 2.1.10. Technik des Abdichtens und der Begasung der Luftkammer

Das Abdichten der Luftkammer erfolgte am 17. Tag der Bebrütung. Das Ausmaß der Luftkammer wurde durch Schieren ermittelt. Anschließend wurde dieser Bereich der Eischale mit Holzleim bestrichen.

Für die Begasung wurde eine Kanüle, die mit einer Gasflasche direkt verbunden war, in die Luftkammer eingeführt und anschließend das Gas unter möglichst geringem Druck 5 min eingeleitet. Danach wurde die Öffnung sofort mit Holzleim verschlossen. Eier, die dabei beschädigt wurden, wurden aus dem Versuch ausgeschlossen. Diese Behandlung wurde am 17. und 18. Tag durchgeführt.

#### 2.1.11. Statistische Berechnung

Die Signifikanz der Unterschiede wurde mit Hilfe des MANN-WHITNEY-Testes berechnet. Die Werte, die in den Tabellen und Abbildungen angegeben sind, stellen Mittelwerte ( $\bar{x}$ ) mit entsprechenden Standardabweichungen ( $\pm s$ ) dar.

#### 2.2. Ergebnisse

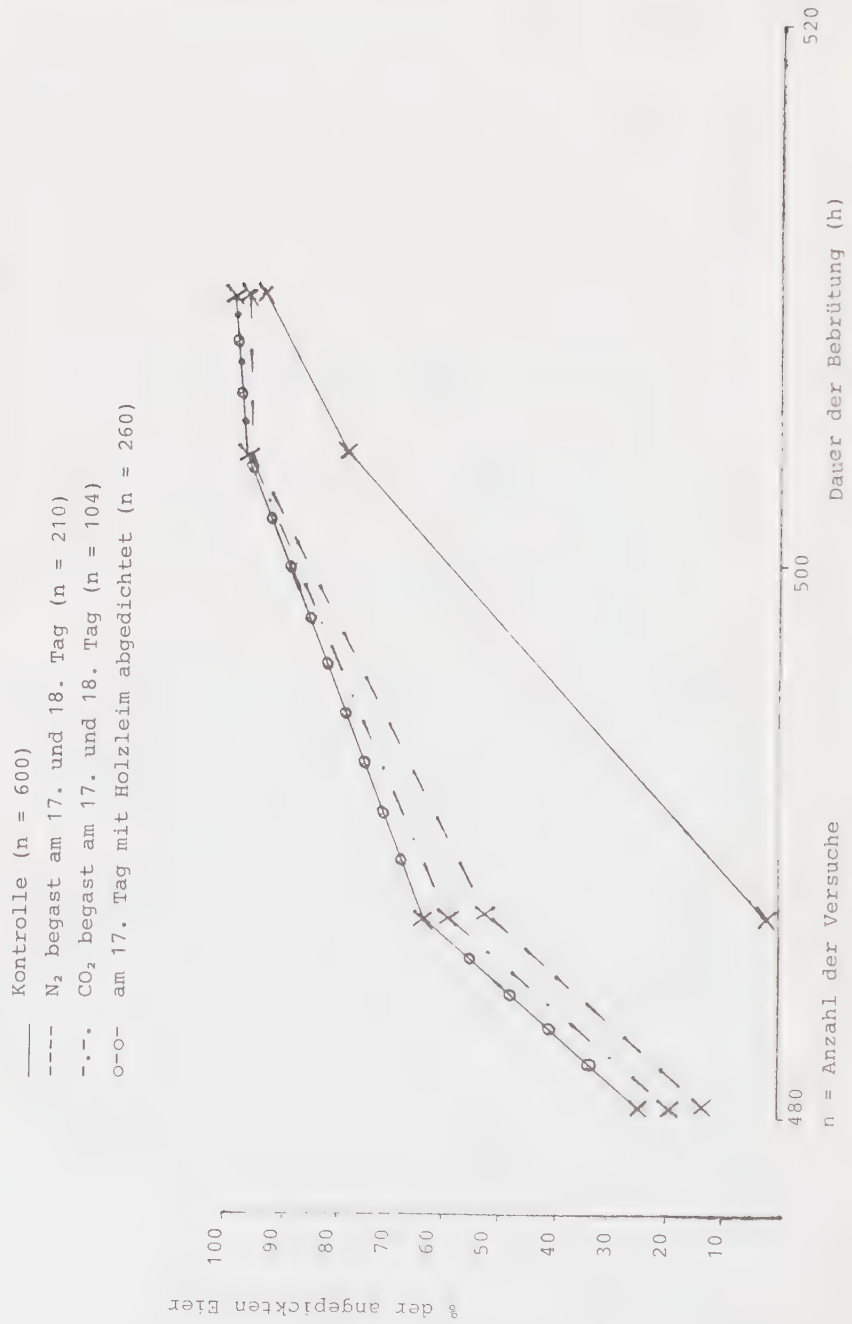
##### 2.2.1. Der Einfluß der Gaszusammensetzung der Luftkammer auf das Schlupfgeschehen des Hühnerkükens

Aufbauend auf den in der Einleitung geschilderten Versuchen VISSCHEDIJKs (vgl. S. 3), wurden nun Versuche mit dem Ziel durchgeführt, über die Gaszusammensetzung der Luftkammer einen Einfluß auf das Schlupfgeschehen zu nehmen. Dies geschah über eine Begasung der Luftkammer am 17. und 18. Tag der Bebrütung mit Stickstoff, Kohlendioxid und Sauerstoff. Die zweimalige Begasung erfolgte, da nach Vorversuchen mit einmaliger Begasung keine signifikanten Effekte auf den Zeitpunkt des Anpickens zu beobachten waren. Ferner wurde versucht, den Sauerstoffeinstrom und den Kohlendioxidausstrom durch Abdichten der Luftkammer zu blockieren.

Da bekannt ist, daß ein Anpicken am spitzen Eipol zeitlich immer früher als am stumpfen Pol erfolgt, wurden bei der Auswertung der Anpickquote nur solche Eier gezählt, die am stumpfen Eipol angepickt wurden.

Dabei zeigte es sich, daß eine Stickstoff- bzw. Kohlendioxidanreicherung und das Abdichten der Luftkammer mit Holzleim ein um ungefähr 10 Stunden beschleunigtes Anpicken zur Folge haben (Abb. 1). Den entgegengesetzten

Abb. 1: Der Zeitpunkt des Anpickens nach Begasung der Luftkammer mit Stickstoff ( $N_2$ ) und Kohlendioxid ( $CO_2$ ) bzw. nach Abdichten derselben mit Holzleim

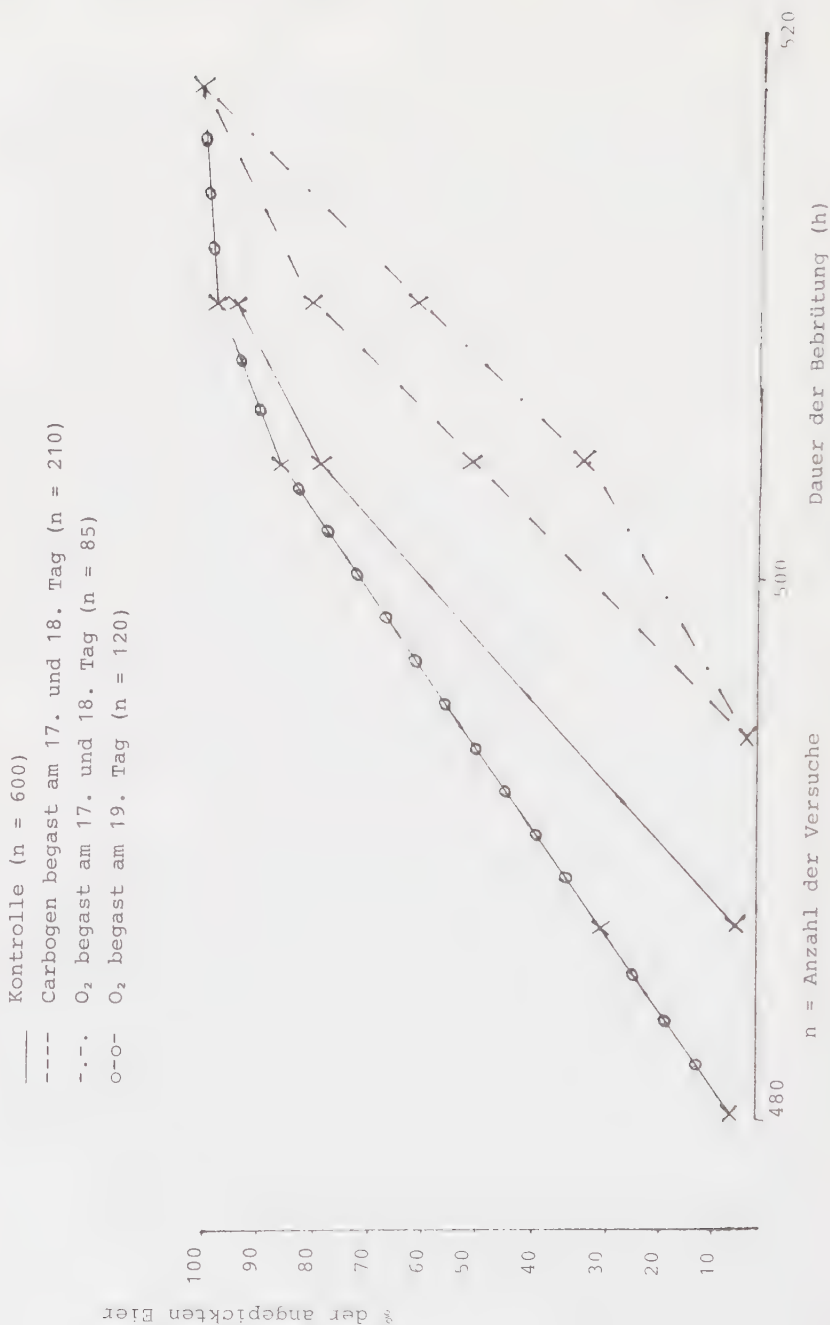


Effekt erreicht man durch eine Begasung der Luftkammer mit Carbogen (95 % O<sub>2</sub> und 5 % CO<sub>2</sub>) bzw. Sauerstoff. Wie Abb. 2 zeigt, erfolgt das Anpicken unter diesen Bedingungen ca. 6 h später als bei Kontrolltieren. Wurde der Sauerstoff in der Luftkammer erst am 19. Tag der Inkubation durch Begasen angereichert, so war ein vorzeitiges Anpicken nicht mehr zu beobachten; im Gegenteil, der Zeitpunkt des Anpickens lag unter diesen Bedingungen in der Regel vor dem der Kontrolltiere. Der Effekt war aber nicht sehr ausgeprägt (Abb. 2).

In anfänglichen Versuchen wurde Paraffin zum Abdichten der Eischale, wie von VISSCHEDIJK (70) beschrieben, eingesetzt. Dabei zeigte sich, daß sich unter dem Einfluß von Paraffin die Absterberate drastisch erhöhte (50 %). Dies ist möglicherweise darauf zurückzuführen, weil es durch das Abdichten mit Paraffin zu Veränderungen der Eihäute kommt. Eigene Versuche ergaben, daß Holzleim (Ponal von der Firma Henckel) in Bezug auf das Anpicken ähnlich wirkt. Unter dem Einfluß von Ponal war ein vorzeitiges Anpicken zu beobachten, ohne daß sich die Absterberate erhöhte.

Ziel der weiteren Untersuchungen war es zu zeigen, ob die Eingriffe in die Gaszusammensetzung der Luftkammer Auswirkungen auf Metabolite der Leber zur Folge haben. Im Folgenden wurde der Einfluß der Gaszusammensetzung auf die Konzentration der Adeninnucleotide, des Glykogens, des Lactat und Pyruvat, der Lipide, des Cholesterins und des Pigmentes in der embryonalen Kükenleber untersucht.

Abb. 2: Der Zeitpunkt des Anpickens nach Begasung der Luftkammer mit Carbogen (95 % O<sub>2</sub>, 5 % CO<sub>2</sub>) und reinem Sauerstoff (O<sub>2</sub>)



### 2.2.2. Der Einfluß der Gaszusammensetzung der Luftkammer auf die Adeninnucleotidkonzentration der embryonalen Kükenleber

Wie aus Tab. 1 zu entnehmen ist, nimmt bei Kontrollen an dem 20. Tag der Bebrütung die ATP-Konzentration ab. Bei einer Begasung der Luftkammer mit Stickstoff bzw. einer Abdichtung mit Holzleim konnte ebenfalls ein ATP-Abfall festgestellt werden, jedoch mit dem Unterschied, daß dieser zeitlich früher einsetzte (Tab. 1). Bei Tieren, deren Luftkammer mit Sauerstoff begast wurde, zeigte sich der entgegengesetzte Effekt, nämlich ein verzögerter ATP-Abfall (Tab. 1).

Veränderungen in den ADP- und AMP-Konzentrationen traten während der letzten Bebrütungswoche weder bei unbehandelten noch bei behandelten Tieren auf (Tab. 2, 3). Die Veränderungen der ATP/ADP und der ATP/AMP-Quotienten spiegeln die veränderten ATP-Werte wider (Tab. 4). Bei Tieren mit beschleunigtem Schlupfgeschehen zeigte sich ein vorzeitiger Abfall der ATP/ADP- und ATP/AMP-Quotienten, bei solchen mit verzögertem Schlupfgeschehen ein zeitlich späterer Abfall der ATP/ADP- und ATP/AMP-Quotienten.

### 2.2.3. Der Einfluß der Gaszusammensetzung der Luftkammer auf den Glykogenstoffwechsel in der embryonalen Kükenleber

Die Glykogenkonzentration der Kontrollen bleibt am 18. und 19. Tag der Bebrütung ungefähr gleich und fällt am 20. Tag bis zum Inkubationsende steil ab (Tab. 5). Bei einer Begasung der Luftkammer mit Stickstoff bzw. einer Abdichtung derselben mit Holzleim zeigte sich der Abfall der Glykogenkonzentration be-

Tab. 1: Die ATP-Konzentration in der embryonalen Kükeneiwei nach Beugung der Luftkammer mit Stickstoff (N<sub>2</sub>) und Sauerstoff (O<sub>2</sub>) bzw. nach Abkühlen der Eizellen mit Holzleim

Dauer der Bebrütung (d)

|                                           | 18                  | 19                         | 20                         | 21                         |
|-------------------------------------------|---------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|
|                                           | ATP (μ Mol/g Leber) |                            |                            |                            |
| Kontrolle                                 | 1,97 ± 0,27         | 1,78 ± 0,11                | 1,26 ± 0,07 <sup>+++</sup> | 0,95 ± 0,15 <sup>+++</sup> |
| N <sub>2</sub> begast<br>(17. u. 18. Tg.) | 1,92 ± 0,23         | 1,47 ± 0,17 <sup>+++</sup> | 0,98 ± 0,08 <sup>+++</sup> | 0,76 ± 0,18 <sup>+++</sup> |
| O <sub>2</sub> begast<br>(17. u. 18. Tg.) | 2,09 ± 0,25         | 1,91 ± 0,20                | 1,67 ± 0,24 <sup>++</sup>  | 1,26 ± 0,17 <sup>+++</sup> |
| Luftkammer<br>abgekühlt<br>(17. Tg.)      | 1,94 ± 0,24         | 1,43 ± 0,17 <sup>++</sup>  | 0,93 ± 0,10 <sup>++</sup>  | 0,77 ± 0,12 <sup>+++</sup> |

Anzahl der Versuche: 6

d = Bebrütungstage

+++ p < 0,001 verglichen mit Tieren am 18. Tag der Bebrütung  
 ° p < 0,05 verglichen mit gleich-  
 °° p < 0,01 altrigen Kontrolltieren  
 °°° p < 0,001

Tab. 2: Die ADP-Konzentration in der embryonalen Kükenleber nach Begasung der Luftkammer mit Stickstoff (N<sub>2</sub>) und Sauerstoff (O<sub>2</sub>) bzw. nach Abdichten derselben mit Holzleim

|                                           | Dauer der Bebrütung (d) |                 |                 |                 |
|-------------------------------------------|-------------------------|-----------------|-----------------|-----------------|
|                                           | 18                      | 19              | 20              | 21              |
|                                           | ADP $\mu$ Mol/g Leber   |                 |                 |                 |
| Kontrolle                                 | 1,00 $\pm$ 0,04         | 0,98 $\pm$ 0,07 | 0,97 $\pm$ 0,05 | 0,92 $\pm$ 0,13 |
| N <sub>2</sub> begast<br>(17. u. 18. Tg.) | 0,85 $\pm$ 0,08         | 0,96 $\pm$ 0,12 | 0,88 $\pm$ 0,09 | 0,83 $\pm$ 0,07 |
| O <sub>2</sub> begast<br>(17. u. 18. Tg.) | 0,77 $\pm$ 0,06         | 0,81 $\pm$ 0,05 | 0,81 $\pm$ 0,06 | 0,83 $\pm$ 0,05 |
| Luftkammer<br>abgedichtet<br>(17. Tg.)    | 1,09 $\pm$ 0,07         | 1,01 $\pm$ 0,08 | 1,03 $\pm$ 0,08 | 0,88 $\pm$ 0,10 |

Anzahl der Versuche: 6

d = Bebrütungstage

Tab. 3: Die AMP-Konzentration in der embryonalen Kükenleber nach Begasung der Luftkammer mit Stickstoff (N<sub>2</sub>) und Sauerstoff (O<sub>2</sub>) bzw. nach Abdichten derselben mit Holzleim

|                                           | Dauer der Bebrütung (d) |                 |                 |                 |
|-------------------------------------------|-------------------------|-----------------|-----------------|-----------------|
|                                           | 18                      | 19              | 20              | 21              |
|                                           | AMP $\mu$ Mol/g Leber   |                 |                 |                 |
| Kontrolle                                 | 0,99 $\pm$ 0,07         | 0,96 $\pm$ 0,06 | 0,97 $\pm$ 0,07 | 0,90 $\pm$ 0,05 |
| N <sub>2</sub> begast<br>(17. u. 18. Tg.) | 1,00 $\pm$ 0,07         | 0,96 $\pm$ 0,08 | 0,98 $\pm$ 0,05 | 0,92 $\pm$ 0,07 |
| O <sub>2</sub> begast<br>(17. u. 18. Tg.) | 0,74 $\pm$ 0,07         | 0,95 $\pm$ 0,07 | 0,92 $\pm$ 0,07 | 0,95 $\pm$ 0,08 |
| Luftkammer<br>abgedichtet<br>(17. Tg.)    | 0,94 $\pm$ 0,08         | 0,90 $\pm$ 0,05 | 0,89 $\pm$ 0,07 | 0,92 $\pm$ 0,06 |

Anzahl der Versuche: 6

d = Bebrütungstage

Tab. 4: Die Quotienten von ATP/ADP und ATP/AMP nach Begasung der Luftkammer mit Stickstoff (N<sub>2</sub>) und Sauerstoff (O<sub>2</sub>) bzw. nach Abdichten derselben mit Holzleim

|                                           | Dauer der Bebrütung (d) |         |         |         |         |
|-------------------------------------------|-------------------------|---------|---------|---------|---------|
|                                           | 18                      | 19      | 20      | 21      |         |
|                                           | ATP/ADP                 | ATP/AMP | ATP/ADP | ATP/AMP | ATP/ADP |
| Kontrolle                                 | 1,92                    | 2,02    | 1,86    | 1,87    | 1,25    |
| N <sub>2</sub> begast<br>(17. u. 18. Tg.) | 2,44                    | 2,00    | 1,66    | 1,57    | 1,40    |
| O <sub>2</sub> begast<br>(17. u. 18. Tg.) | 2,82                    | 2,96    | 2,41    | 2,04    | 1,96    |
| Luftkammer<br>abgedichtet<br>(17. Tg.)    | 1,82                    | 2,14    | 1,45    | 1,58    | 1,09    |
|                                           |                         |         |         | 1,27    | 0,96    |
|                                           |                         |         |         |         | 0,86    |

Anzahl der Versuche: 6

d = Bebrütungstage

Tab. 5: Die Glykogenkonzentration in der embryonalen Kükenleber nach Begasung der Luftkammer mit Stickstoff (N<sub>2</sub>) und Sauerstoff (O<sub>2</sub>) bzw. nach Abdichten der Luftkammer mit Holzleim

| Dauer der Bebrütung (d)                   |                            |                             |                             |                             |
|-------------------------------------------|----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
|                                           | 18                         | 19                          | 20                          | 21                          |
| Glucose <sup>x</sup> (µ Mol/g Leber)      |                            |                             |                             |                             |
| Kontrolle                                 | 263,3 ± 15,8               | 244,5 ± 28,6                | 146,3 ± 15,2 <sup>+++</sup> | 97,5 ± 10,5 <sup>+++</sup>  |
| N <sub>2</sub> begast<br>(17. u. 18. Tg.) | 240,3 ± 15,5 <sup>%%</sup> | 174,6 ± 24,0 <sup>???</sup> | 135,8 ± 26,4 <sup>+++</sup> | 82,5 ± 7,3 <sup>+++</sup>   |
| O <sub>2</sub> begast<br>(17. u. 18. Tg.) | 268,8 ± 17,3               | 266,2 ± 20,5                | 182,6 ± 15,9 <sup>???</sup> | 117,5 ± 19,8 <sup>???</sup> |
| Luftkammer<br>abgedichtet<br>(17. Tg.)    | 216,0 ± 28,6 <sup>%%</sup> | 166,2 ± 16,6 <sup>???</sup> | 126,3 ± 21,4 <sup>+++</sup> | 85,6 ± 19,7 <sup>+++</sup>  |

Anzahl der Versuche: 6

d = Bebrütungstage

x Glykogen wurde als Glucose berechnet

|     |           |                                                   |                |                                                |
|-----|-----------|---------------------------------------------------|----------------|------------------------------------------------|
| +++ | p < 0,001 | vergleichen mit Leber<br>am 18. Tag der Bebrütung | %<br>p < 0,001 | vergleichen mit gleich-<br>altrigen Kontrollen |
|-----|-----------|---------------------------------------------------|----------------|------------------------------------------------|

reits am 19. Tag (Tab. 5). Wird die Luftkammer mit Sauerstoff begast, so beginnt der Glykogenabfall zwar am 20. Tag der Bebrütung, die Glykogenkonzentration ist aber an diesem und dem darauffolgendem Tag im Vergleich zu den Kontrolltieren signifikant höher (Tab. 5).

Da dem cAMP bekanntlich eine regulierende Funktion im Glykogenstoffwechsel zukommt, wurde im Folgenden untersucht, ob die Glykogenolyse mit Veränderungen der cAMP-Konzentration einhergeht.

In diesem Zusammenhang wurde die cAMP-Konzentration bei Kontrolltieren und bei solchen, deren Luftkammer abgedichtet wurde, bestimmt. In beiden Gruppen war der Abfall der Glykogenkonzentration von keinem cAMP-Anstieg begleitet (Tab. 6).

Da der Abbau der aus dem Glykogen freigesetzten Glucose auf dem Wege der Glycolyse zum Lactat bzw. Pyruvat führt, interessierte im Folgenden die Frage, ob der Glykogenabbau mit einem Anstieg der Lactat- bzw. Pyruvatkonzentration in der Leber einhergeht. Wie Tab. 7 zeigt, steigt bei Kontrollen die Lactatkonzentration bereits einen Tag vor der einsetzenden Glykogenolyse (Tab. 5) an. Bei Tieren mit beschleunigtem Schlupfgeschehen - mit Stickstoff begast bzw. Luftkammer abgedichtet - ist bereits am 18. Tag ein erhöhter Lactatspiegel gegenüber Kontrollen zu beobachten. Hingegen konnte bei Küken, deren Luftkammer mit Sauerstoff begast wurde, kein Unterschied gegenüber Kontrollen festgestellt werden. Die Pyruvatkonzentration bleibt bei behandelten wie auch bei unbehandelten Tieren annähernd gleich (Tab. 8). Die Veränderungen in den Lactat/Pyruvat-Quotienten zeigen die Veränderungen der Lactatkonzentrationen (Tab. 9).

Tab. 6: Die cAMP-Konzentration in der embryonalen Kückenleber nach Abdichten der Luftkammer mit Holzleim

|                                        | Dauer der Bebrütung (d) |                 |                 |                 |
|----------------------------------------|-------------------------|-----------------|-----------------|-----------------|
|                                        | 18                      | 19              | 20              | 21              |
|                                        | p Mol cAMP/ $\mu$ g DNS |                 |                 |                 |
| Kontrolle                              | $5,23 \pm 1,46$         | $5,27 \pm 1,17$ | $5,07 \pm 1,46$ | $4,88 \pm 0,96$ |
| n                                      | (8)                     | (8)             | (10)            | (7)             |
| Luftkammer<br>abgedichtet<br>(17. Tag) | $4,48 \pm 0,99$         | $5,51 \pm 0,66$ | $4,39 \pm 1,71$ | $5,06 \pm 0,84$ |
| n                                      | (8)                     | (8)             | (7)             | (6)             |

n = Anzahl der Versuche  
d = Bebrütungstage

Tab. 7: Die Lactatkonzentration in der embryonalen Kükenleber nach Begasung der Luftkammer mit Stickstoff (N<sub>2</sub>) und Sauerstoff (O<sub>2</sub>) bzw. nach Abdichten der Luftkammer mit Holzleim

|                                                                 | Dauer der Bebrütung (d)    |                            |                            |                                                   |
|-----------------------------------------------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|---------------------------------------------------|
|                                                                 | 18                         | 19                         | 20                         | 21                                                |
|                                                                 | $\mu$ Mol Lactat/g Leber   |                            |                            |                                                   |
| Kontrolle                                                       | 0,32 ± 0,03                | 0,54 ± 0,04 <sup>+++</sup> | 0,78 ± 0,03 <sup>+++</sup> | 0,95 ± 0,04 <sup>+++</sup>                        |
| N <sub>2</sub> begast<br>(17. u. 18. Tg.)                       | 0,52 ± 0,03 <sup>ooo</sup> | 0,79 ± 0,04 <sup>88+</sup> | 0,96 ± 0,10 <sup>88+</sup> | 0,97 ± 0,11 <sup>+++</sup>                        |
| O <sub>2</sub> begast<br>(17. u. 18. Tg.)                       | 0,34 ± 0,06                | 0,52 ± 0,05 <sup>+++</sup> | 0,76 ± 0,06 <sup>+++</sup> | 0,96 ± 0,04 <sup>+++</sup>                        |
| Luftkammer<br>abgedichtet<br>(17. Tag)                          | 0,53 ± 0,03 <sup>ooo</sup> | 0,79 ± 0,03 <sup>999</sup> | 0,78 ± 0,14 <sup>+++</sup> | 0,92 ± 0,04 <sup>+++</sup>                        |
| Anzahl der Versuche: 6                                          |                            |                            |                            |                                                   |
| d = Bebrütungstage                                              |                            |                            |                            |                                                   |
| +++ P < 0,001 verglichen mit Tieren<br>am 18. Tag der Bebrütung |                            | °°<br>°°°                  | P < 0,01<br>P < 0,001      | verglichen mit gleich-<br>altrigen Kontrolltieren |

Tab. 8: Die Pyruvatkonzentration in der embryonalen Kükenleber nach Begasung der Luftkammer mit Stickstoff ( $N_2$ ) und Sauerstoff ( $O_2$ ) bzw. nach Abdichten der Luftkammer mit Holzleim

|                                  | Dauer der Bebrütung (d)         |                   |                   |                   |
|----------------------------------|---------------------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
|                                  | 18                              | 19                | 20                | 21                |
|                                  | $\mu\text{Mol Pyruvat/g Leber}$ |                   |                   |                   |
| Kontrolle                        | $0,040 \pm 0,007$               | $0,032 \pm 0,003$ | $0,045 \pm 0,004$ | $0,034 \pm 0,004$ |
| $N_2$ begast<br>(17. u. 18. Tg.) | $0,040 \pm 0,005$               | $0,047 \pm 0,007$ | $0,045 \pm 0,007$ | $0,046 \pm 0,005$ |
| $O_2$ begast<br>(17. u. 18. Tg.) | $0,038 \pm 0,004$               | $0,045 \pm 0,005$ | $0,044 \pm 0,005$ | $0,043 \pm 0,005$ |
| Luftkammer<br>abgedichtet        | $0,037 \pm 0,003$               | $0,043 \pm 0,002$ | $0,041 \pm 0,003$ | $0,043 \pm 0,004$ |

Anzahl der Versuche: 6

d = Bebrütungstage

Tab. 9: Der Lactat/Pyruvat-Quotient nach Begasung der Luftkammer  
mit Stickstoff ( $N_2$ ) und Sauerstoff ( $O_2$ ) bzw. nach Abdichten der Luftkammer mit Holzleim

|                                        | Dauer der Bebrütung (d) |       |       |       |
|----------------------------------------|-------------------------|-------|-------|-------|
|                                        | 18                      | 19    | 20    | 21    |
| Kontrolle                              | 8,14                    | 17,47 | 17,64 | 29,40 |
| $N_2$ begast<br>(17. u. 18. Tg.)       | 9,12                    | 20,30 | 23,77 | 27,91 |
| $O_2$ begast<br>(17. u. 18. Tg.)       | 9,15                    | 12,85 | 18,44 | 23,34 |
| Luftkammer<br>abgedichtet<br>(17. Tg.) | 14,51                   | 18,30 | 24,23 | 23,76 |

Anzahl der Versuche: 6

d = Bebrütungstage

#### 2.2.4. Der Einfluß der Gaszusammensetzung der Luftkammer auf den Fett-,Cholesterin- und Pigmentgehalt in der embryonalen Kükenleber

Wie bereits in der Einleitung beschrieben, nimmt sowohl die Lipideinlagerung, wie auch der Cholesterineinbau und der Pigmentgehalt in der Kükenleber gegen Ende der Bebrütung zu. Hier wurde nun untersucht, inwieweit die Begasung bzw. die Abdichtung der Luftkammer einen Einfluß auf den Fett-,Cholesterin- und Pigmentgehalt der Leber hat.

Tab. 10 zeigt, daß der Fettgehalt in der embryonalen Kükenleber vom 17. - 21. Tag der Bebrütung stetig steigt. Bei beschleunigtem Schlupfgeschehen nimmt der Fetteinbau stärker zu. Bereits am 19. Tag der Bebrütung kann hier ein signifikanter Unterschied zu Kontrollen festgestellt werden. Bei verzögertem Schlupfgeschehen vollzieht sich der Fetteinbau in die Leber langsamer. Am 20. Tag der Bebrütung kann ein signifikant geringerer Fettgehalt im Vergleich zu Kontrollen beobachtet werden (Tab. 10).

Parallel zur Zunahme des Fettgehaltes ist auch ein kontinuierlicher Anstieg des Cholesteringehaltes der embryonalen Kükenleber vom 17. - 21. Tag der Bebrütung bei Kontrollen zu beobachten (Tab. 11). Bei Tieren, deren Luftkammer mit Stickstoff begast wurde, tritt am 18. Tag der Bebrütung eine signifikante Erhöhung des Cholesteringehaltes auf, die sich bis zum 21. Tag fortsetzt (Tab. 11). Nach Abdichtung der Luftkammer ist ebenfalls eine signifikante Erhöhung des Cholesteringehaltes vom 19. - 21. Tag zu beobachten (Tab. 11). Eine Begasung der Luftkammer mit Sauerstoff hat dagegen einen verzögerten Cholesterineinbau zur Folge (Tab. 11).

Tab. 10: Der Fettgehalt der embryonalen Kükenleber nach Begasung der Luftkammer mit Stickstoff (N<sub>2</sub>) und Sauerstoff (O<sub>2</sub>) bzw. nach Abdichten der Luftkammer mit Holzleim

|                                           |  | Dauer der Bebrütung (d) |              |                             |                             |                              |
|-------------------------------------------|--|-------------------------|--------------|-----------------------------|-----------------------------|------------------------------|
|                                           |  | 17                      | 18           | 19                          | 20                          | 21                           |
|                                           |  | Fettgehalt in %x        |              |                             |                             |                              |
| Kontrolle                                 |  | 23,42 ± 3,02            | 28,57 ± 5,61 | 35,43 ± 4,67 <sup>+++</sup> | 44,38 ± 4,87 <sup>+++</sup> | 48,67 ± 5,61 <sup>+++</sup>  |
| n                                         |  | (6)                     | (6)          | (7)                         | (12)                        | (6)                          |
| N <sub>2</sub> begast<br>(17. u. 18. Tg.) |  |                         | 31,62 ± 6,47 | 44,80 ± 2,92 <sup>+++</sup> | 47,62 ± 3,85 <sup>+++</sup> | 50,60 ± 4,73 <sup>+++</sup>  |
| n                                         |  |                         | (5)          | (6)                         | (11)                        | (6)                          |
| O <sub>2</sub> begast<br>(17. u. 18. Tg.) |  |                         | 26,12 ± 4,52 | 31,43 ± 4,12 <sup>++</sup>  | 36,32 ± 2,10 <sup>82+</sup> | 42,40 ± 2,81 <sup>2+++</sup> |
| n                                         |  |                         | (5)          | (6)                         | (7)                         | (5)                          |
| Luftkammer<br>abgedichtet (17.Tg.)        |  |                         | 35,10 ± 4,50 | 43,30 ± 4,11 <sup>82+</sup> | 46,32 ± 4,42 <sup>+++</sup> | 51,01 ± 2,60 <sup>+++</sup>  |
| n                                         |  |                         | (5)          | (6)                         | (7)                         | (5)                          |

n = Anzahl der Versuche

d = Bebrütungstage

x = bezogen auf gefriergetrocknete Leber

++ P < 0,01

+++ P < 0,001 verglichen mit Kontrolltieren am 17. Tag der Bebrütung

° P < 0,05  
°° P < 0,01 verglichen mit gleichaltrigen Kontrolltieren

Tab. 11: Der Cholesteringehalt der embryonalen Kückenleber nach Begasung der Luftkammer mit Stickstoff (N<sub>2</sub>) und Sauerstoff (O<sub>2</sub>) bzw. nach Abdichten der Luftkammer mit Holzleim

|                                           |  | Dauer der Bebrütung (d)             |                                    |                                    |                                     |                                    |
|-------------------------------------------|--|-------------------------------------|------------------------------------|------------------------------------|-------------------------------------|------------------------------------|
|                                           |  | 17                                  | 18                                 | 19                                 | 20                                  | 21                                 |
|                                           |  | mg Cholesterin/g Leber <sup>x</sup> |                                    |                                    |                                     |                                    |
| Kontrolle                                 |  | 132,6 ± 12,3<br>(6)                 | 144,5 ± 14,8<br>(6)                | 180,8 ± 14,7 <sup>+++</sup><br>(7) | 223,0 ± 14,6 <sup>+++</sup><br>(12) | 258,1 ± 21,6 <sup>+++</sup><br>(6) |
| N <sub>2</sub> begast<br>(17. u. 18. Tg.) |  |                                     | 178,2 ± 16,7 <sup>88°</sup><br>(5) | 224,5 ± 26,3 <sup>92+</sup><br>(6) | 255,5 ± 14,8 <sup>9++</sup><br>(10) | 296,7 ± 12,8 <sup>9++</sup><br>(6) |
| O <sub>2</sub> begast<br>(17. u. 18. Tg.) |  |                                     | 142,6 ± 16,6<br>(5)                | 153,8 ± 12,9 <sup>9°</sup><br>(6)  | 189,2 ± 14,6 <sup>9++</sup><br>(7)  | 212,7 ± 21,3 <sup>9++</sup><br>(5) |
| Luftkammer<br>abgedichtet (17. Tg.)       |  |                                     | 162,5 ± 12,2 <sup>++</sup><br>(5)  | 215,5 ± 19,7 <sup>9++</sup><br>(5) | 244,4 ± 9,3 <sup>9++</sup><br>(7)   | 308,2 ± 5,9 <sup>9++</sup><br>(5)  |

n = Anzahl der Versuche

d = Bebrütungstage

x = bezogen auf gefriergetrocknete Leber

+ P < 0,05 verglichen mit Kontrolltieren  
 ++ P < 0,01 am 17. Tag der Bebrütung  
 +++ P < 0,001

° P < 0,05 verglichen mit gleich-  
 °° P < 0,01 altrigen Kontrolltieren  
 °°° P < 0,001

Tab. 12: Der Pigmentgehalt der embryonalen Kükenleber nach Begasung der Luftkammer mit Stickstoff (N<sub>2</sub>) und Sauerstoff (O<sub>2</sub>) bzw. nach Abdichten der Luftkammer mit Holzleim

|                                           | Dauer der Bebrütung (d)            |                              |                              |                              |                              |
|-------------------------------------------|------------------------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|
|                                           | 17                                 | 18                           | 19                           | 20                           | 21                           |
|                                           | E 460 nm/100 mg Leber <sup>x</sup> |                              |                              |                              |                              |
| Kontrolle                                 | 0,018 ± 0,003                      | 0,024 ± 0,003 <sup>++</sup>  | 0,052 ± 0,004 <sup>+++</sup> | 0,083 ± 0,005 <sup>+++</sup> | 0,104 ± 0,010 <sup>+++</sup> |
| n                                         | (5)                                | (5)                          | (7)                          | (9)                          | (5)                          |
| N <sub>2</sub> begast<br>(17. u. 18. Tg.) |                                    | 0,028 ± 0,003 <sup>++</sup>  | 0,057 ± 0,003 <sup>+++</sup> | 0,099 ± 0,010 <sup>+++</sup> | 0,128 ± 0,012 <sup>+++</sup> |
| n                                         |                                    | (5)                          | (7)                          | (9)                          | (5)                          |
| O <sub>2</sub> begast<br>17. u. 18. Tg.)  |                                    | 0,023 ± 0,004                | 0,046 ± 0,008 <sup>+++</sup> | 0,071 ± 0,008 <sup>+++</sup> | 0,089 ± 0,007 <sup>+++</sup> |
| n                                         |                                    | (5)                          | (7)                          | (9)                          | (5)                          |
| Luftkammer<br>abgedichtet (17. Tg.)       |                                    | 0,029 ± 0,004 <sup>+++</sup> | 0,064 ± 0,007 <sup>+++</sup> | 0,098 ± 0,011 <sup>+++</sup> | 0,123 ± 0,010 <sup>+++</sup> |
| n                                         |                                    | (5)                          | (7)                          | (9)                          | (5)                          |

n = Anzahl der Versuche

d = Bebrütungstage

x = bezogen auf gefriergetrocknete Leber

++ P < 0,01 verglichen mit Kontrolltieren

+++ P < 0,001 am 17. Tag der Bebrütung

° P < 0,05 verglichen mit gleich-

°° P < 0,01 altrigen Kontrolltieren

Die Zunahme lipoider Substanzen in der embryonalen Kükenleber vollzieht sich parallel zum Einbau des Dotterpigmentes. Wie der Fettgehalt, so steigt auch der Pigmentgehalt bei Kontrollen vom 17. - 21. Tag der Bebrütung kontinuierlich an (Tab. 12). Bei Tieren mit beschleunigtem Schlupfgeschehen zeigt sich vom 19. - 21. Tag eine schnellere Pigmenteinlagerung im Vergleich zu Kontrollen (Tab. 12), bei solchen mit verzögertem Schlupfgeschehen vollzieht sich die Pigmenteinlagerung langsamer (Tab. 12).

#### 2.2.5. Der Einfluß von Calciumionen auf das Schlupfgeschehen und auf Lebermetabolite des embryonalen Kükens

Da einerseits gegen Ende der Inkubation zunehmend Calciumionen vom Embryo aus der Eischale aufgenommen werden, andererseits Calciumionen regulierend auf die Glykogenolyse und durch ihre entkoppelnde Wirkung auf das Adeninnucleotidsystem einen Einfluß ausüben, war die Frage von Interesse, ob sich durch Erhöhung der zellulären Calciumionenkonzentration Auswirkungen auf das Schlupfgeschehen oder auf Lebermetabolite aufzeigen lassen. Zur Klärung dieser Frage mußte zunächst die Calciumionenkonzentration in der Leber angereichert werden. Dies wurde durch direkte Applikation von  $\text{CaCl}_2$  in das Ei angestrebt.

Dabei zeigte es sich, daß eine einmalige Applikation von  $6,8 \mu \text{ Mol CaCl}_2$  am 17. Tag zu einer drastischen Steigerung der Calciumionenkonzentration in der Leber führt (Tab. 13). Eine Erhöhung von  $\text{Ca Cl}_2$  über diese Menge hinaus steigert die Absterberate bis zu 100 %. Bei den Kontrollen war lediglich am 20. und 21. Tag ein geringgradiger Anstieg der Calciumionenkonzentration im

Tab. 13: Der Einfluß exogener Calciumionen auf den Calciumgehalt der embryonalen Kükenleber

|                   |     | Dauer der Bebrütung (d) |                        |                        |                        |                        |
|-------------------|-----|-------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|
|                   |     | 17                      | 18                     | 19                     | 20                     | 21                     |
|                   |     | ppm Calcium/g Leber     |                        |                        |                        |                        |
| Kontrolle         |     | $12,23 \pm 1,92$        | $13,07 \pm 1,29$       | $13,82 \pm 2,53$       | $16,57 \pm 2,06^{++}$  | $16,33 \pm 1,77^{++}$  |
| n                 | (5) |                         | (6)                    | (8)                    | (10)                   | (12)                   |
| CaCl <sub>2</sub> |     |                         | $39,57 \pm 6,29^{ooo}$ | $43,75 \pm 5,84^{ooo}$ | $40,40 \pm 7,67^{ooo}$ | $46,23 \pm 8,37^{ooo}$ |
| n                 |     |                         | (7)                    | (8)                    | (10)                   | (13)                   |

n = Anzahl der Versuche

d = Bebrütungstage

++ P < 0,01 verglichen mit Tieren am 17. Tag der Bebrütung

ooo P < 0,001

verglichen mit gleichaltrigen Kontrolltieren

Tab. 14: Der Einfluß exogener Calciumionen auf die Trockensubstanz der embryonalen Kükenleber

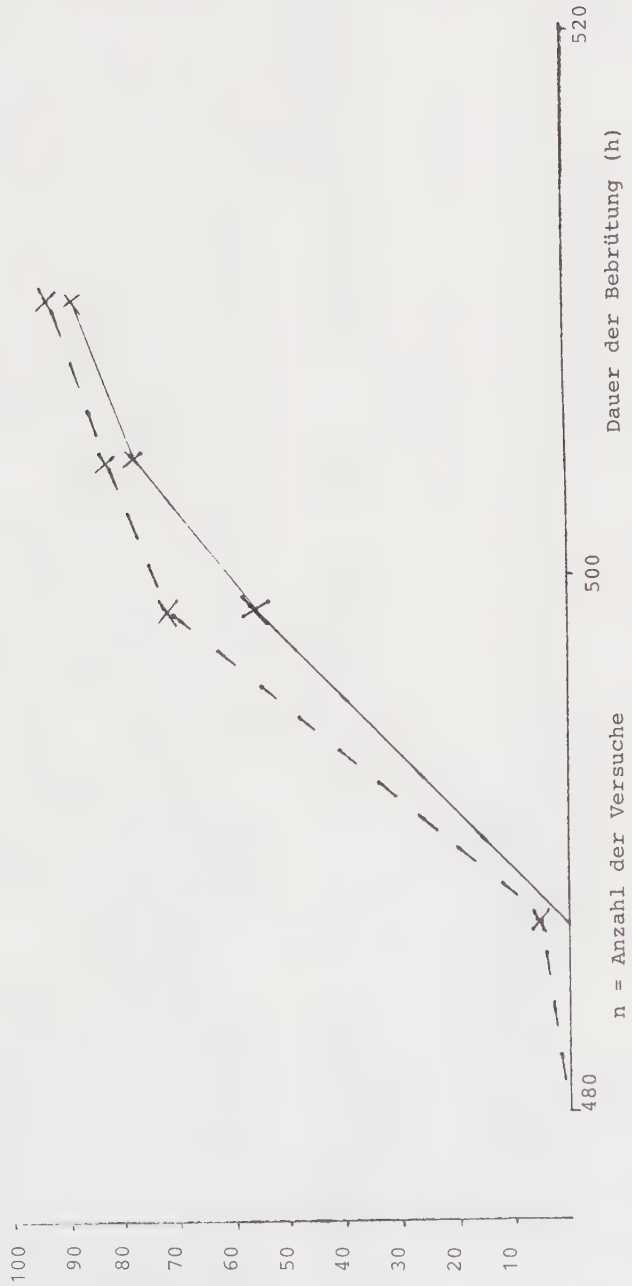
|                   | Dauer der Bebrütung (d) |              |              |              |              |
|-------------------|-------------------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
|                   | 17                      | 18           | 19           | 20           | 21           |
|                   | g TS/g Leber            |              |              |              |              |
| Kontrolle         | 14,14 ± 2,30            | 12,83 ± 4,79 | 13,00 ± 2,72 | 11,50 ± 3,07 | 12,57 ± 2,46 |
| n                 | (5)                     | (6)          | (8)          | (8)          | (7)          |
| CaCl <sub>2</sub> |                         | 15,00 ± 4,43 | 12,85 ± 2,91 | 12,00 ± 2,78 | 12,37 ± 2,61 |
| n                 |                         | (7)          | (7)          | (10)         | (8)          |

n = Anzahl der Versuche

d = Bebrütungstage

Abb. 3: Der Zeitpunkt des Anpickens nach Applikation von Calciumionen

— Kontrolle (n = 320)  
--- CaCl<sub>2</sub> (n = 275)



Tab. 15: Der Einfluß exogener Calciumionen auf die Konzentration der Adenosin-5'-Triphosphate in der embryonalen Kükenleber

|                                   |           | Dauer der Bebrütung (d)     |                           |                            |                            |
|-----------------------------------|-----------|-----------------------------|---------------------------|----------------------------|----------------------------|
|                                   |           | 17                          | 18                        | 19                         | 20                         |
|                                   |           | µ Mol ATP/g Leber           |                           |                            |                            |
| Kontrolle                         |           | 2,0 ± 0,21                  | 1,65 ± 0,25 <sup>++</sup> | 1,31 ± 0,10 <sup>+++</sup> | 1,08 ± 0,18 <sup>+++</sup> |
| n                                 | (8)       |                             | (9)                       | (7)                        | (6)                        |
| CaCl <sub>2</sub>                 |           | 1,63 ± 0,31x <sup>ooo</sup> | 1,44 ± 0,23               | 1,12 ± 0,14 <sup>ooo</sup> | 0,93 ± 0,10 <sup>+++</sup> |
| n                                 | (12)      |                             | (8)                       | (8)                        | (6)                        |
| n = Anzahl der Versuche           |           |                             |                           |                            |                            |
| d = Bebrütungstage                |           |                             |                           |                            |                            |
| x = gemessen 6 h nach Applikation |           |                             |                           |                            |                            |
| ++                                | P < 0,01  | verglichen mit Tieren       | °°                        | P < 0,01                   | verglichen mit gleich-     |
| +++                               | P < 0,001 | am 17. Tag der Bebrütung    | °°°                       | P < 0,001                  | altrigen Kontrolltieren    |

Tab. 16: Der Einfluß exogener Calciumionen auf die Konzentration der Adenosin-5'-Diphosphate in der embryonalen Kükenleber

|                   |  | Dauer der Bebrütung (d)    |                            |                            |                            |                            |
|-------------------|--|----------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|
|                   |  | 17                         | 18                         | 19                         | 20                         | 21                         |
|                   |  | μ Mol ADP/g Leber          |                            |                            |                            |                            |
| Kontrolle         |  | 0,84 ± 0,10                | 1,12 ± 0,26                | 1,14 ± 0,15                | 0,90 ± 0,15                | 0,97 ± 0,21                |
| n                 |  | (6)                        | (6)                        | (6)                        | (6)                        | (6)                        |
| CaCl <sub>2</sub> |  | 1,85 ± 0,48 <sup>***</sup> | 2,03 ± 0,63 <sup>***</sup> | 1,92 ± 0,60 <sup>***</sup> | 2,23 ± 0,61 <sup>***</sup> | 1,63 ± 0,42 <sup>***</sup> |
| n                 |  | (7)                        | (8)                        | (7)                        | (8)                        | (7)                        |

n = Anzahl der Versuche

d = Bebrütungstage

x = gemessen 6 h nach Applikation

\*\*\* p < 0,001 verglichen mit gleichaltrigen Kontrolltieren

Tab. 17: Der Einfluß exogener Calciumionen auf die Konzentration der Adenosin-5'-Monophosphate in der embryonalen Kükenleber

|                   |  | Dauer der Bebrütung (d) |             |             |             |
|-------------------|--|-------------------------|-------------|-------------|-------------|
|                   |  | 17                      | 18          | 19          | 20          |
|                   |  | µ Mol AMP/g Leber       |             |             |             |
| Kontrolle         |  | 0,94 ± 0,23             | 0,90 ± 0,11 | 0,93 ± 0,35 | 1,01 ± 0,22 |
| n                 |  | (6)                     | (5)         | (6)         | (5)         |
| CaCl <sub>2</sub> |  | 1,08 ± 0,18x            | 0,87 ± 0,10 | 1,13 ± 0,21 | 1,11 ± 0,15 |
| n                 |  | (6)                     | (7)         | (6)         | (6)         |
|                   |  |                         |             |             | 1,04 ± 0,18 |
|                   |  |                         |             |             | (6)         |
|                   |  |                         |             |             | 0,90 ± 0,10 |
|                   |  |                         |             |             | (6)         |

n = Anzahl der Versuche

d = Bebrütungstage

x = gemessen 6 h nach Applikation

Tab. 18: Der Einfluß exogener Calciumionen auf den Glykogengehalt der embryonalen Kükenleber

|                   |  | Dauer der Bebrütung (d)              |                         |                         |                           |                           |
|-------------------|--|--------------------------------------|-------------------------|-------------------------|---------------------------|---------------------------|
|                   |  | 17                                   | 18                      | 19                      | 20                        | 21                        |
|                   |  | Glucose <sup>g</sup> (μ Mol/g Leber) |                         |                         |                           |                           |
| Kontrolle         |  | 277 ± 37,2                           | 280 ± 38,9              | 266 ± 35,1              | 151 ± 34,8 <sup>+++</sup> | 117 ± 11,2 <sup>+++</sup> |
| n                 |  | (7)                                  | (7)                     | (8)                     | (6)                       | (6)                       |
| CaCl <sub>2</sub> |  | 310 ± 17,7 <sub>x</sub>              | 264 ± 15,2 <sup>+</sup> | 247 ± 29,9 <sup>+</sup> | 135 ± 26,8 <sup>+++</sup> | 113 ± 18,1 <sup>+++</sup> |
| n                 |  | (8)                                  | (8)                     | (8)                     | (7)                       | (6)                       |

n = Anzahl der Versuche

d = Bebrütungstage

<sup>g</sup> = Glykogen wurde als Glucose berechnet

x = gemessen 6 h nach Applikation

<sup>+</sup> P < 0,05 verglichen mit Tieren  
<sup>+++</sup> P < 0,001 am 17. Tag der Bebrütung

Tab. 19: Der Einfluß exogener Calciumionen auf die Lactatkonzentration  
in der embryonalen Kükenleber

|           |                          | Dauer der Bebrütung (d) |                           |                            |                            |    |
|-----------|--------------------------|-------------------------|---------------------------|----------------------------|----------------------------|----|
|           |                          | 17                      | 18                        | 19                         | 20                         | 21 |
|           |                          | μ Mol Lactat/g Leber    |                           |                            |                            |    |
| Kontrolle | 0,32 ± 0,07              | 0,34 ± 0,11             | 0,46 ± 0,08 <sup>+</sup>  | 0,66 ± 0,11 <sup>+++</sup> | 0,79 ± 0,08 <sup>+++</sup> |    |
| n         | (6)                      | (6)                     | (6)                       | (6)                        | (6)                        |    |
| Calcium   | 0,31 ± 0,04 <sup>x</sup> | 0,36 ± 0,08             | 0,48 ± 0,09 <sup>++</sup> | 0,76 ± 0,07 <sup>+++</sup> | 0,82 ± 0,04 <sup>+++</sup> |    |
| n         | (6)                      | (6)                     | (6)                       | (6)                        | (6)                        |    |

n = Anzahl der Versuche

d = Bebrütungstage

x = gemessen 6 h nach Applikation

+ P < 0,05 verglichen mit Tieren  
++ P < 0,01 am 17. Tag der Bebrütung  
+++ P < 0,001

Tab. 20: Der Einfluß exogener Calciumionen auf die Pyruvatkonzentration  
in der embryonalen Kükenleber

|           |  | Dauer der Bebrütung (d) |               |               |               |               |
|-----------|--|-------------------------|---------------|---------------|---------------|---------------|
|           |  | 17                      | 18            | 19            | 20            | 21            |
|           |  | μ Mol Pyruvat/g Leber   |               |               |               |               |
| Kontrolle |  | 0,037 ± 0,008           | 0,032 ± 0,008 | 0,047 ± 0,009 | 0,037 ± 0,010 | 0,040 ± 0,008 |
| n         |  | (4)                     | (5)           | (5)           | (4)           | (4)           |
| Calcium   |  | 0,041 ± 0,006x          | 0,041 ± 0,008 | 0,043 ± 0,002 | 0,042 ± 0,006 | 0,044 ± 0,002 |
| n         |  | (4)                     | (4)           | (5)           | (4)           | (4)           |

n = Anzahl der Versuche

d = Bebrütungstage

x = gemessen 6 h nach Applikation

Vergleich zu den Werten am 17. Tag zu beobachten (Tab. 13). Eine Veränderung der Lebertrockensubstanz war weder bei Kontrollen noch bei Calciumbehandelten Tieren zu erkennen (Tab. 14). Zu einer deutlichen Veränderung des Anpickzeitpunktes kam es unter dem Einfluß von  $\text{CaCl}_2$  nicht (Abb. 3).

Bei den Lebermetaboliten konnte nach Applikation von  $\text{CaCl}_2$  am 17. und 19. Tag der Bebrütung ein signifikanter Unterschied der ATP-Konzentration im Vergleich zu Kontrollen festgestellt werden (Tab. 15).

Die ADP-Konzentration erhöhte sich unter dem Einfluß von  $\text{CaCl}_2$  während der letzten Inkubationsphase drastisch. Dabei liegen die Werte behandelter Tiere annähernd doppelt so hoch wie die unbehandelten (Tab. 16).

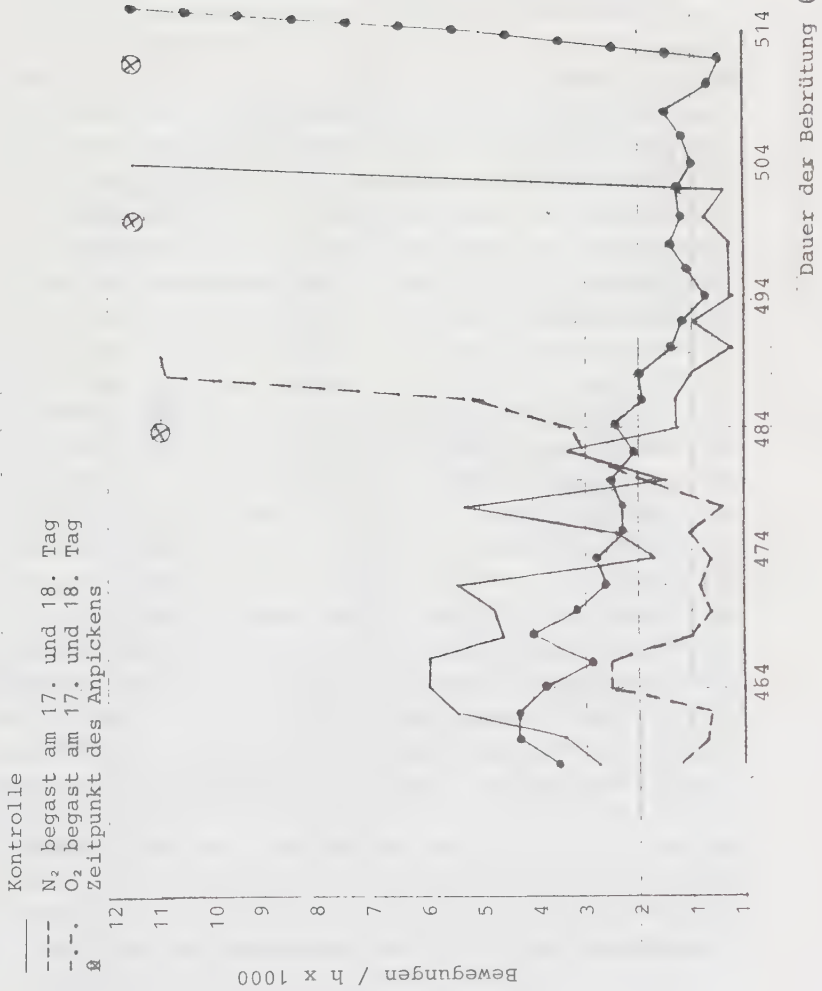
In den AMP-Konzentrationen ergibt sich zwischen beiden Gruppen kein Unterschied (Tab. 17).

Ebenso weisen die Glykogen-, Lactat- und Pyruvatkonzentrationen beider Gruppen keine Differenz auf (Tab. 18, 19, 20).

#### 2.2.6. Der Einfluß der Begasung der Luftkammer auf die Motilität des Kükenembryos

Gegen Ende der Inkubation ist das Motilitätsschema des embryonalen Kükens durch eine hohe Aktivität charakterisiert, der sich etwa 24 h vor dem Zeitpunkt des Anpickens eine Ruhephase anschließt. Diese wird von einer Phase erhöhter Aktivität abgelöst, die schließlich zum Anpicken führt. Dasselbe Bild zeigt sich nach einer Begasung der Luftkammer mit Stickstoff bzw. Sauerstoff mit dem Unterschied, daß sich die Ruhephase bei mit Stickstoff begasten Tieren zu einem früheren und bei den mit Sauerstoff begasten Tieren zu einem späteren Zeitpunkt einstellt (Abb. 4).

Abb. 4: Der Einfluß der Begasung der Luftkammer mit Stickstoff ( $N_2$ ) und Sauerstoff ( $O_2$ ) auf die embryonale Motilität.



### 3. Diskussion

Die Untersuchungen an Eiern mit unterschiedlicher Gaszusammensetzung in der Luftkammer ergaben im Hinblick auf den Zeitpunkt des Anpickens folgende Ergebnisse: Wurde die Kohlendioxidspannung in der Luftkammer durch Begasen mit Kohlendioxid erhöht oder die Sauerstoffspannung durch Begasen mit Stickstoff erniedrigt, oder schließlich der Kohlendioxid- und Sauerstoffaustausch im Bereich der Luftkammer durch Abdichten mit Holzleim unterdrückt, so war ein vorzeitiges Anpicken der Eischale zu beobachten (Abb. 1). Wurde umgekehrt die Sauerstoffspannung durch Begasen mit Sauerstoff oder Carbogen (95 % O<sub>2</sub> und 5 % CO<sub>2</sub>) angehoben, so setzte das Anpicken im Vergleich zu Kontrollen später ein (Abb. 2).

Diese Ergebnisse bestätigen die Befunde von VISSCHEDIJK (68,69,70), der erstmals die Bedeutung des Kohlendioxid- und Sauerstoffpartialdruckes, bzw. des Kohlendioxid-/Sauerstoffquotienten in der Luftkammer für das Schlupfgeschehen aufzeigte. Im Gegensatz zu den Untersuchungen von VISSCHEDIJK waren in dieser Arbeit - abgesehen von den Versuchen, in denen die Luftkammer mit Holzleim abgedichtet wurde - die Eingriffe in die Gaszusammensetzung der Luftkammer nur von kurzer Dauer (2 mal je 5 min). Dennoch waren unter diesen Bedingungen deutliche Effekte auf den Zeitpunkt des Anpickens zu beobachten (Abb. 1, 2). Dies ist überraschend, wenn man das Volumen der Luftkammer mit dem Sauerstoffverbrauch des Embryos vergleicht. Das embryonale Küken verbraucht gegen Ende der Inkubation ca. 6 l Sauerstoff/d (71,72), während das Volumen der Luftkammer zu diesem Zeitpunkt ungefähr 9 - 11 ml ausmacht (52). Es ist daher anzunehmen, daß der durch die Begasung in die Luftkammer gebrachte Sauerstoffüber-

druck sehr rasch durch metabolische Prozesse und durch Diffusion über die Eischale wieder ausgeglichen wird (49,72). Ebenso dürften sich die nach Begasung mit Kohlendioxid bzw. Stickstoff erhöhten Partialdrucke in sehr kurzer Zeit durch Diffusion über die Eischale wieder normalisieren.

Offensichtlich reicht eine kurzzeitige Veränderung des Kohlendioxid- oder Sauerstoffpartialdruckes in der Luftkammer, die innerhalb von 24 h wiederholt wird, aus, um deutliche Veränderungen im Schlupfgeschehen auszulösen.

Nach diesen Befunden interessierte die Frage, inwieweit die Veränderungen in der Gaszusammensetzung der Luftkammer auch Auswirkungen auf den Stoffwechsel des Embryos haben. In diesem Zusammenhang wäre eine Information über die Spannung der Blutgase sehr aufschlußreich, da sie in direktem Austausch mit der Luftkammer stehen (15,20). Versuche verschiedener Arbeitsgruppen haben auch gezeigt, daß die Sauerstoff- und Kohlendioxidspannungen des Blutes die Verhältnisse in der Luftkammer widerspiegeln (8,15).

Alle diese Untersuchungen enden jedoch spätestens am 19. Tag der Bebrütung (42,54). Sie geben daher keine Auskunft über den Zeitraum, der für das Schlupfgeschehen wichtig ist. Eigene Versuche, diesen Zeitraum zu analysieren, scheiterten an der Blutgewinnung; da die Chorioallantoisgefäße gegen Ende der Inkubation obliterieren (8,15), konnten ab dem 20. Tag der Inkubation keine Blutproben mehr gewonnen werden.

In der vorliegenden Arbeit wurde daher untersucht, ob die Gaszusammensetzung in der Luftkammer neben den Aus-

wirkungen auf das Schlupfgeschehen metabolische Veränderungen in der Leber zur Folge hat. Dabei wurden Glykogen-, Adeninnucleotid- und Lipidkonzentrationen als metabolische Parameter ausgewählt.

Die Untersuchungen zeigten, daß die Veränderungen dieser Parameter, die gegen Ende der Inkubation auftreten, durch hypoxische Bedingungen in der Luftkammer (Begasung mit Stickstoff oder Abdichten der Luftkammer) beschleunigt und durch hyperoxische Bedingungen (Begasung mit Sauerstoff) verlangsamt werden.

Der Glykogenabbau vollzog sich parallel zum Schlupfgeschehen. In der Literatur (4,23,58,59) wird die Meinung vertreten, daß um die Zeit des Schlupfes Glucose zur Unterstützung der Funktion des Zentralnervensystems, über das das Schlupfgeschehen gesteuert wird, verfügbar sein muß. Da beim Vogelembryo im Gegensatz zum Säugetierembryo die Bereitstellung von Glucose von Seiten des Muttertieres ausscheidet (10,31,43,57,62), ist der Vogelembryo offensichtlich auf eine endogene Versorgung angewiesen (13,16).

Im Zusammenhang mit der Regulierung der Glykogenolyse wurde die cAMP-Konzentration in der Leber während der letzten Bebrütungswoche bestimmt. Die Messung bei Kontrollen und bei Tieren, deren Gasaustausch über die Luftkammer durch das Abdichten derselben blockiert wurde, ergab keinen Anstieg der cAMP-Konzentration zu dem Zeitpunkt, an dem die Glykogenolyse einsetzt (Tab. 6). Zu dem gleichen Ergebnis bei unbehandelten Tieren kam auch WEISS (73). Dies steht im Gegensatz zur allgemein geäußerten Vorstellung, wonach dem cAMP eine regulierende Funktion bei der Glykogenolyse des Kükens zukommt (24,33,63,64). FREEMAN (14) konnte durch künstliche Er-

höhung des cAMP-Gehaltes zwar eine Glykogenolyse auslösen, aus diesem Befund kann jedoch nicht gefolgert werden, daß die Glykogenolyse bei unbehandelten Küken durch cAMP ausgelöst wird.

In letzter Zeit wurde die Rolle der Calciumionen bei der Regulierung der Glykogenolyse viel diskutiert (46). Nach neueren Befunden aktivieren Calciumionen den enzymatischen Glykogenabbau durch den Einbau in das Calmodulin, das zu einer Aktivierung der Phosphorylase führt (6). Eigene Versuche, in denen die Calciumionenkonzentration in der Leber um das zweifache gesteigert wurde, ergaben jedoch keinen Hinweis, daß die Glykogenolyse über Calciumionen eingeleitet wird (Tab. 18).

Ähnlich wie bei Glykogen vollzieht sich auch der ATP-Abfall parallel zum Schlupfgeschehen (Tab. 1). An diesem Abfall dürfte der Glykogenstoffwechsel, über den die zelluläre ATP-Konzentration maßgeblich beeinflusst werden kann (73), nicht ursächlich beteiligt sein, da bei dem weiteren Umsatz, der durch die Glykogenolyse freigesetzten Glucose eher mit einem Anstieg von ATP zu rechnen wäre. Bekanntlich stellt die Glycolyse eine wichtige Quelle der ATP-Bildung dar.

Damit bleibt als weitere Ursache für den ATP-Abfall die oxidative Phosphorylierung, der zweite Stoffwechselweg, der sich maßgeblich auf die zelluläre ATP-Konzentration auswirkt (6). Für diesen Stoffwechselweg scheint die Verfügbarkeit des NADH, das als Substrat der ATP-Bildung anzusehen ist, nicht limitierend zu sein. Nach Untersuchungen von WITTMANN (76) zeichnet sich die embryonale Kükenleber in diesem Entwicklungsstadium durch einen ungewöhnlich hohen  $\beta$ -Hydroxybutyrat / Acetacetat-Quotienten aus, der bekanntlich das mitochondriale NADH/NAD-Verhältnis widerspiegelt.

Im Gegensatz zum Glykogenstoffwechsel zeigten sich beim Adeninnucleotidstoffwechsel deutliche Auswirkungen der exogenen Calciumzufuhr. Die Anreicherung von Calciumionen (Applikation von  $6,8 \mu \text{ mol}$  am 17. Tag der Bebrütung) in der Leber führte einerseits zu einem beschleunigten Abfall der ATP-Konzentration (Tab. 15) und andererseits zu einem deutlichen Anstieg der ADP-Konzentration (Tab. 16).

Der Anstieg der ADP-Konzentration ist bemerkenswert, weil weder bei Kontrollen noch bei Tieren mit verändertem Schlupfgeschehen der ATP-Abfall von einem ADP- oder AMP-Anstieg begleitet ist (Tab. 16,17). Da Calciumionen bei hoher Konzentration entkoppelnd auf die oxidative Phosphorylierung wirken (6), ist die Vermutung naheliegend, daß die Anreicherung der Calciumionen den ATP-Aufbau verhinderte und als Folge davon sich die ADP-Konzentration erhöhte.

Insgesamt lassen sich die metabolischen Auswirkungen, die  $\text{CaCl}_2$  auslöste, nicht mit den Veränderungen, die sich gegen Ende der Inkubation am Glykogen- und Adeninnucleotidstoffwechsel vollziehen, vergleichen. Es scheint daher nicht sehr wahrscheinlich, daß Calciumionen an den Veränderungen dieser metabolischen Parameter bei Kontrollen beteiligt sind. Um jedoch diese Frage endgültig zu entscheiden, bedarf es der Versuche mit genau abgestufter Calciumanreicherung in der Leber. Wie ein Vergleich mit Kontrollen zeigt, war die durch Applikation erzielte Calciumanreicherung weit über dem Anstieg, der bei Kontrollen gegen Ende der Inkubation zu erwarten ist (Tab. 13).

Da sich nun sowohl der Glykogen- wie auch der ATP-Abfall durch hypoxische und hyperoxische Bedingungen in der Luftkammer beschleunigen bzw. verlangsamen lassen

(Tab. 5, 1), und andererseits das Ende der Inkubationszeit durch einen Sauerstoffabfall in der Luftkammer charakterisiert ist (68,69,71), ist die Vermutung nahelegend, daß der hypoxische Zustand in der Luftkammer das Regulans für den Glykogen- und ATP-Abbau darstellt (73,76).

Die Vorstellung, daß eine limitierte Sauerstoffversorgung in der Luftkammer sich im Stoffwechsel des Kükens bemerkbar macht, wird auch durch den Anstieg des Lactat/Pyruvat-Quotienten, der gegen Ende der Inkubation zu beobachten ist, unterstützt (Tab. 9). Bekanntlich führt eine Hypoxie zu einem Anstieg dieses Redoxquotienten (26,30).

Daß ein limitiertes Sauerstoffangebot die Glykogenolyse induziert, ist seit langem bekannt (27,30,35). Ebenso ist bekannt, daß Sauerstoffmangel die ATP-Bildung einschränkt (30). Der Befund, daß es unter diesen Bedingungen nicht zu einem entsprechenden Anstieg von ADP und AMP kommt (Tab. 2, 3), dürfte darauf zurückzuführen sein, daß das Adeninnucleotidgerüst durch Enzyme, die auf der Stufe von AMP angreifen, weiter abgebaut wird.

Auch der Anstieg des Lipidgehaltes der Leber zeigt eine Abhängigkeit vom Schlupfgeschehen (Tab. 10). Er setzt jedoch zu einem früheren Zeitpunkt als die ATP- bzw. Glykogenveränderungen ein und ist kontinuierlich ansteigend bis zum Schlupfzeitpunkt. Dabei wird die Zunahme des Lipidgehaltes maßgeblich von einer Zunahme des Cholesteringehaltes bestimmt (Tab. 11). Die Lipide stammen wohl aus der Resorption des Dottersackes im letzten Bebrütungsstadium; sie werden in der Leber gespeichert und dienen der zum Schlüpfen notwendigen Energiebereitstellung in Organen (17,45,53).

Über den Mechanismus, der die Fettresorption einleitet und steuert, wurden bis jetzt keine Vorstellungen entwickelt.

Die Messungen der embryonalen Motilität ergaben, daß sich um den 20. Tag der Bebrütung eine ausgeprägte Ruhephase einstellt, der sich eine gesteigerte Aktivität anschließt, die schließlich zum Anpicken der Eischale führt (Abb. 4). Diese Ruhephase fällt mit dem Eindringen des Embryos in die Luftkammer und mit dem Beginn der Lungenatmung zusammen (11,21,36). Es liegt die Vermutung nahe, daß sich der Eintritt in die Luftkammer zunächst beruhigend auf den Embryo auswirkt, und erst Veränderungen des Kohlendioxid- und Sauerstoffdruckes, die aufgrund der einsetzenden Lungenatmung zu erwarten sind (32,71,73), eine gesteigerte Aktivität auslösen, die letztlich zum Anpicken führt (36). Unterstützt wird diese Vermutung durch die Bestätigung, daß in einigen Fällen Küken, die keine Ruhephase aufweisen, am spitzen Eipol anpicken.

Die Versuche in dieser Arbeit zeigten allerdings auch, daß das Motilitätsschema durch Begasen der Luftkammer mit Stickstoff oder Sauerstoff nicht nachhaltig beeinflußt wird. Es kam lediglich zu einer zeitlichen Verschiebung der Ruhephase (Abb. 4). Möglicherweise bedarf es einer länger andauernden Veränderung der Gaszusammensetzung, um das Motilitätsschema zu beeinflussen.

#### 4. Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wurde der Einfluß der Gaszusammensetzung in der Luftkammer auf das Schlupfgeschehen und den Leberstoffwechsel des embryonalen Kükens untersucht. Dabei zeigte es sich, daß eine kurzzeitige Begasung (5 min) der Luftkammer mit Stickstoff oder Kohlendioxid am 17. und 18. Tag der Bebrütung ein vorzeitiges Anpicken der Eischale zur Folge hat. Ein vergleichbarer Effekt wurde erzielt, wenn die Eischale am 17. Tag der Inkubation im Bereich der Luftkammer abgedichtet wurde. Umgekehrt pickten Embryonen, deren Luftkammer mit Sauerstoff oder Carbogen (95 % O<sub>2</sub>, 5 % CO<sub>2</sub>) begast wurde, die Eischale später als Kontrolltiere an.

Begasen der Luftkammer mit Stickstoff oder Abdichten der Eischale im Bereich der Luftkammer führten außerdem zu einem beschleunigten Abbau von Glykogen und ATP, sowie zu einem rascheren Lipid-, Cholesterin- und Pigmenteinbau in der Leber. Demgegenüber veränderten sich nach Begasen mit Carbogen diese metabolischen Parameter langsamer.

Die Untersuchungen ergaben keinen Hinweis, daß gegen Ende der Inkubation der Glykogenstoffwechsel der Leber unter der regulierenden Kontrolle von cAMP oder der Calciumionenkonzentration steht. Außerdem scheint der ATP-Abbau ebenfalls nicht durch Veränderungen der zellulären Calciumionenkonzentration ausgelöst zu werden. Es ist naheliegend, daß das Kohlendioxid / Sauerstoffverhältnis in der Luftkammer einen entscheidenden Effekt sowohl auf das Schlupfgeschehen wie auch auf den Leberstoffwechsel ausübt.

Das Motilitätsschema des embryonalen Kükens weist kurz vor dem Anpicken der Eischale eine Ruhephase auf. Veränderungen der Gaszusammensetzung in der Luftkammer waren immer von einem vorzeitigem (Begasen mit Stickstoff) bzw. einem verzögerten (Begasen mit Sauerstoff) Einsetzen der Ruhephase begleitet.

### Summary

In the work, presented here, the influence of gas composition of the air cell on the hatching process and on liver metabolism of embryonic chicks was studied. The experiments revealed, that gassing the air cell with nitrogen or carbon dioxide on day 17 and 18 of incubation for a short time (5 min) is followed by an accelerated pipping of the egg shell. A similar effect was attained, when the egg shell in the area of the air cell was sealed with glue on day 17 of incubation. In contrast, embryos pipped the egg shell later than normal, when the air cell was gassed with oxygen or carbogen (95 % O<sub>2</sub>, 5 % CO<sub>2</sub>).

Furthermore, gassing the air cell with nitrogen or sealing the egg shell in the area of the air cell with glue resulted in an accelerated degradation of glycogen and ATP, and in an accelerated uptake of lipids, cholesterolin and pigments in liver. In contrast to that, the changes of these metabolic parameters were retarded after gassing with carbogen.

As to the regulatory mechanism of glycogen metabolism in the liver, there ist no indication, that cAMP or calcium ions are involved in glycogen degradation, occuring towards the end of incubation. Furthermore, the fall in ATP does not seem to be mediated by changes of cellular calcium ion concentration. It is assumed, that the carbon dioxide / oxygen ratio in the air cell exerts a decisive effect on the hatching process as well as on the liver metabolism.

In the motility pattern of the embryonic chick before pipping the egg shell, a decrease of motility was ob-

served. Changes of the gas composition in the air cell were accompanied by a premature (gassing with nitrogen) or a delayed (gassing with oxygen) phase of motility.

5.           Literaturverzeichnis

1. Ar A., Paganelli C. V., Reeves R. B., Greene D. G. and Rahn H., (1974) The avian egg: water vapour conductance, shell thickness, and functional pore area. *Condor* 76, 153 - 158.
2. Balaban M. and Hill J., (1969) Perihatching behaviour patterns of chick embryos. *Anim. Behav.*, 17, 430 - 439.
3. Bellairs R., (1964) In: *Advances in Morphogenesis* M. Abercrombie and J. Brachet (eds), Academic Press, New York & London, 265 - 276.
4. Britton S. W., (1930) Maternal and fetal blood sugar changes under various experimental conditions. *Am. J. Physiol.* 95, 178 - 185.
5. Burton K., (1956) A study of the conditions and mechanism of the diphenylamine reaction for the colorimetric estimation of deoxyribonucleic acid. *Biochem. J.* 62, 315 - 323.
6. Cohen P., (1978) *FEBS Lett.* 92, 287 - 293.
7. Czock R. und Lamprecht W., (1970) In: *Methoden der enzymatischen Analyse*, Bergmeyer H. U. (ed.), Verlag Chemie Weinheim, 1407 - 1411.
8. Dawes C. and Simkiss K., (1969) The acid - base status of the blood of the developing chick embryo. *J. Exp. Biol.*, 50, 79 - 80.
9. Dawes C. and Simkiss K., (1971) The effects of respiratory acidoses in the chick embryo. *J. Exp. Biol.* 55, 77 - 84.
10. Dawkins M. J. R., (1963) Glycogen synthesis and breakdown in rat liver at birth. *Q. J. Exp. Physiol.* 48, 265 - 272.
11. Decker J. D. and Hamburger V., (1967) The influence of different brain regions on periodic motility of the chick embryo. *J. Exp. Zool.* 165, 371 - 380.
12. Exton J. H., Cherrington A. and Hutson D., (1977) Cyclic AMP - mediated and non cyclic AMP - mediated hormonal control of liver glycogen metabolism. L 2, A 1 - 9, 11th FFBS Meeting, Copenhagen.

13. Freeman B. M., (1962) Gaseous metabolism in the domestic chicken - II. Oxygen consumption in full-term and hatching embryo, with a note on a possible cause for 'death in shell'. Br. Poult. Sci. 3, 63 - 72.
14. Freeman B. M. and Manning A. C. C., (1971) Glykogenolysis and lipolysis in Gallus Domesticus during perinatal period. Comp. gen. Pharmac. 2., 198 - 204.
15. Freeman B. M. and Mission B. H., (1970) pH, pO<sub>2</sub> and pCO<sub>2</sub> of blood from the foetus and neonate of Gallus Domesticus. Comp. Biochem. Physiol. 33, 763 - 772.
16. Freeman B. M., (1965) The importance of glycogen at the termination of the embryonic existence of Gallus Domesticus. Comp. Biochem. Physiol. 14, 217 - 222.
17. Freeman B. M. and Vince M. A., (1974) In: Development of the avian embryo. Chapman and Hall, London.
18. Folch J., (1957) A simple method for the isolation and perification of total lipids from animal tissues. J. Biol. Chem. 226 - 297.
19. Gilman A. G., (1972) Proteine binding assays for cyclic nucleotides. Adv. cycl. Nucl. Res. 2, 9 - 24.
20. Girard H., (1970) pCO<sub>2</sub> et pH sanguin de embryon de poulet. In: Thèse Doct. Sci. Nat., Fac. Sci. Paris.
21. Hamburger V. and Oppenheim R., (1967) Prehatching motility and hatching behaviour in the chick. J. Exp. Zool., 166, 171 - 204.
22. Hall F. G., (1934) Hemoglobin function in the developing chick. J. Physiol. 83, 222 - 228.
23. Hard W. L., Reynolds O. E. and Winbury M., (1944) Carbohydrate, fat and moisture relationships in the pregnant, fetal and newborn guinea pig. J. Exp. Zool. 96, 189 - 199.
24. Hardeland R., (1971) Das zyklische Adenosin-3', 5'-Monophosphat als regulatorische Mittlersubstanz. Naturw. Rundschau 5, 199 - 207.
25. Haselbauer R., (1980) Wirkungsvergleich von Trisetum flavescens, Vitamin D<sub>3</sub>, D<sub>3</sub>-Estern und D<sub>3</sub>-Metaboliten am Modell Strontiumrachitis. Dissertation der tierärztl. Fakultät München.
26. Hays F. and Sumbardo A. H., (1927) Physical characters of eggs in relation to hatchability. Poult. Sci. 6, 196 - 200.

27. Henning B., Scheid P. and Piiper J., (1971) Determination of the haldane effect in chicken blood. *Resp. Physiol.* 11, 279 - 284.
28. Hers H. G., (1976) The control of glycogen metabolism in the liver. *Annual Rev. of Biochem.* 45, 167 - 189.
29. Hohorst H. J., (1970) In: Methoden der enzymatischen Analyse, Bergmeyer H. U. (ed.), Verlag Chemie Weinheim, 1425 - 1429.
30. Hohorst H. J., Kreutz F. H. and Reim M., (1961) The oxidation / reduction state of the extramitochondrial DPN/DPNH system in rat liver and the hormonal control of substrate levels in vivo. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 4, 163 - 173.
31. Jaquot R., (1955) Recherches sur le controle hormonal du glycogène hépatique chez le foetus de rat. *J. Physiol. (Paris)* 47, 857 - 866.
32. Jaworek D., Gruber W. und Bergmeyer H. U. (1970) In: Methoden der enzymatischen Analyse, Bergmeyer H. U. (ed.), Verlag Chemie Weinheim, 2051 - 2055.
33. Jost J. P. and Rickenburg H. V., (1971) Cyclic AMP. *Annual Rev. of Biochem.* 40, 741 - 774.
34. Keppler D. und Decker A. K., (1970) In: Methoden der enzymatischen Analyse, Bergmeyer H. U. (ed.) Verlag Chemie Weinheim, 1089 - 1094.
35. Kilsheimer G. S., Weber D. R. and Ashmore J., (1960) Hepatic glucose production in developing chicken embryo. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 104, 515 - 518.
36. Kovach J., (1968) Spatial orientation of the chick during the last five days of incubation. *J. of Comp. and Physiol. Psychology*, 66, 283 - 288.
37. Kuo Z. Y., (1932) Ontogeny of embryonic behaviour in aves. I. The chronology and general nature of the behaviour of the chick embryo. *J. Exp. Zool.* Vol. 61, 395 - 430.
38. Kuo Z. Y. and Shen T. C. R., (1937) Ontogeny of embryonic behaviour in aves. XI. Respiration in the chick embryo. *J. Comp. Physiol.* Vol. 24, 49 - 58.
39. Kutchai H. and Steen J. B., (1971) Permeability of the shell membranes of hen's egg during development. *Respir. Physiol.* 11, 265 - 278.

40. Lamprecht W. und Trautschold D., (1970) In: Methoden der enzymatischen Analyse, Bergmeyer H. U. (ed.) Verlag Chemie Weinheim, 2024 - 2033.
41. Liebermann C., (1885) Chem. Ber. 18, 1803 - 1810.  
Burchard H., (1890) C. 61, 25 - 35.
42. Lillie F. R., (1952) Lillie's Development of the chick, revised by Hamilton H. L. New York, Rinehart and Winston, 279 - 289.
43. Mc Cance R. A. and Widdowson E. M., (1959) The effect of lowering the ambient temperature on the metabolism of the new-born pig. J. Physiol. 147, 124 - 134.
44. Needham J., (1931) Chemical embryology, 3 Vol. University Press, Cambridge, England 986 - 990.
45. Noble G. and Moore J. H., (1966) Physiology of the domestic fowl, Horton Smith C. and Amoroso, Oliver E. C. and Boyd (eds), 87 - 96.
46. Norman W. and Henry H. L., (1978) Vitamin D: Two dihydroxylated metabolites are required for normal chicken egg hatchability. Poult. Sci. 20, 815 - 817.
47. Oppenheim R. and Narayanan C. H., (1968) Experimental studies on the hatching behaviour in the chick: Thoracic spinal gaps. J. Exp. Zool. 168, 387 - 394.
48. Paganelli C. V., Ar A. and Rahn H., (1973) Relative water vapour permeabilities of the shell and shell membranes of the hen's egg. Physiol. 16, 415 - 425.
49. Paganelli C. V., Ar A. Rahn H. and Wangensteen O. D., (1975) Diffusion in the gase phase: the effects of ambient pressure and gas composition. Respir. Physiol. 25, 247 - 258.
50. Petry H. and Wittman J., (1978) A new method for recording spontaneous activity of chicken embryos in intact eggs. Poult. Sci. Vol. 57, No. 5.
51. Rahn H. and Ar A., (1974) The avian egg: incubation time and water loss. Condor 76, 147 - 152.
52. Rahn H., Paganelli C. V. and Ar A., (1974) The avian egg: aircell gas tension, metabolism and incubation time. Respir. Physiol. 22, 297 - 309.
53. Romanoff A. L., (1967) Biochemistry of the avian embryo. New York: Wiley, 3987 - 3998.

54. Romanoff A. L., (1960) The avian embryo. Mac Millan Co., 1115 - 1136.
55. Romijn C. and Lokhorst W., (1951) Foetal respiration in the hen egg. Phys. Comp. Oecel. 2, 187 - 197.
56. Romijn C. and Roos J., (1938) The air space of the hen's egg and its changes during the period of incubation. J. Physiol. 94, 365 - 379.
57. Schlossman H., (1938) The carbohydrate metabolism of the foetal dog under the influence of insulin. J. Physiol. 92, 219 - 227.
58. Shelly H., (1960) Blood sugars and tissue carbohydrate in foetal and infant lambs and rhesus monkeys. J. Physiol. 153, 527 - 552.
59. Shelly H., (1961) Glycogen reserves and their changes at birth and in anoxia. Br. med. Bull. 17, 137 - 143.
60. Sherline P., Lynch A. and Gilsman W. H., (1972) Cyclic AMP and adrenergic receptor control of rat liver glycogen metabolism. Endocrinology 91, 680 - 690.
61. Shimazu T. and Amakawa A., (1968) Regulation of glycogen metabolism in liver by autonomic nervous system. Biochem. Biophys. Acta 165, 335 - 348.
62. Stafford A. and Weatherall J. A. C., (1960) The survival of young rats in nitrogen. J. Physiol. 153, 457 - 472.
63. Sutherland E. W., Butcher R. W., Robinson G. A. and Hardman J. G., (1967) The role of adenosine-3', 5'-monophosphate in normal action. In: Wirkungsmechanismus der Hormone, Karlson (ed.), Springer Verlag, 1 - 32.
64. Sutherland E. W., Robinson M. D. and Nashville Ph. D., (1969) The role of cyclic AMP in the control of carbohydrate metabolism. Diabetes, 18, No. 12, 797 - 817.
65. Tazawa H. and Mochizuki M., (1976) Rates of oxygenation and Bohr shift of capillary blood in chick embryos. Nature (London) 261, 509 - 511.
66. Tullet S. G. and Board R. G., (1977) Determinants of avian eggshell porosity. J. Zool. 183, 203 - 211.

67. Tullett S. G., (1975) Regulation of avian eggshell porosity. J. Zool. 177, 339 - 348.
68. Visschedijk, A. H. J., (1968) Air space and embryonic respiration. I. The pattern of gaseous exchange in the fertile egg during the dosing stages of incubation. Br. Poult. Sci. 9, 173 - 184.
69. Visschedijk A. H. J., (1962) Praenatale Gaswisseling bij de Kijp. Thesis, University of Utrecht.
70. Visschedijk A. H. J., (1968) The air space and embryonic respiration. II. The Times of pipping and hatching as influenced by an artificially changed permeability of the shell over the air space. Br. Poult. Sci. 9, 185 - 196.
71. Wangenstein O. D. and Rahn H., (1970/71) Respiratory gas exchange by the avian embryo. Respir. Physiol. 11, 31 - 45.
72. Wangenstein O. D., Wilson D. and Rahn H., (1970/71) Diffusion of gases across the shell of the hen's egg. Respir. Physiol. 11, 16 - 30.
73. Weiß A., (1979) Der Einfluß des Thyroxins und Thioharnstoffs auf biochemische Vorgänge der Kükenleber in der perinatalen Phase. Dissertation der tierärztl. Fakultät München.
74. Windle W. F. and Barcroft J., (1938) Some factors governing the initiation of respiration in the chick. Am. J. Physiol. Vol. 121, 684 - 691.
75. Windle W. F., Scharfenberg L. G. and Steele A. G., (1938) Influence of carbon dioxide and anoxemia upon respiration in the chick at hatching. Am. J. Physiol. 121, 692 - 699.
76. Wittmann J., (1978) Der perinatale Stoffwechsel der Kükenleber und seine Beeinflußbarkeit. Habilitationsschrift der tierärztl. Fakultät München.

Herrn Prof. Dr. H. Zucker danke ich für die Überlassung  
des Arbeitsplatzes im Institut für Tierphysiologie der  
Universität München.

Herrn Prof. Dr. D. Giesecke gilt mein Dank für die gute  
Betreuung.

Herrn Dr. J. Wittmann möchte ich in besonderer Weise  
für die Überlassung des Themas und die vorbildliche  
Anleitung danken.

Sehr herzlich danke ich Herrn Dr. H. Petry für die  
freundliche Unterstützung.



## Lebenslauf

|                            |                                                                                             |
|----------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------|
| Name:                      | Weißenbeck, Jakobus-Stephanus                                                               |
| Geburtsdatum:              | 23.12.1950 in Oberroth                                                                      |
| Wohnort:                   | Friedbergerstr. 14, 8061 Oberroth                                                           |
| Ehefrau:                   | Gabriele Weißenbeck, geb. Auer                                                              |
| Vater:                     | Franz Weißenbeck, Landwirt                                                                  |
| Mutter:                    | Therese Weißenbeck, geb. Burgmair                                                           |
| 1957 - 1961                | Volksschule in 8061 Schwabhausen                                                            |
| 1961 - 1971                | Hum. Benediktinergymnasium Ettal                                                            |
| 19.06.1971                 | Abitur                                                                                      |
| WS 1971/72                 | Studium Jura an der Universität München                                                     |
| ab WS 1972/73              | Studium Tiermedizin an der Universität München                                              |
| 01.08.1978                 | Approbation als Tierarzt                                                                    |
| 01.12.1978 -<br>01.01.1980 | Wissenschaftl. Hilfskraft am Institut<br>für Physiologie der tierärztl. Fakultät<br>München |
| 01.02.1980 -<br>31.07.1980 | Assistent bei Dr. med vet. Heinz Werle,<br>Ingolstädter Str. 106, Gaimersheim               |
| ab 25.09.1980              | Tierarzt am Schlachthof Freising,<br>Dr. von Daller Str. 11, Freising                       |









